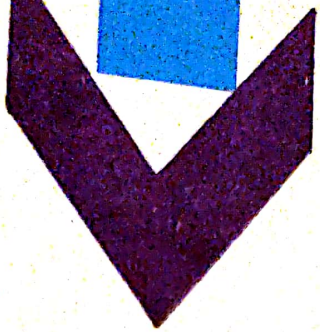
N. P. DUBININ

GENETICA MOLECULARĂ ŞI ACŢIUNEA RADIAŢIILOR ASUPRA EREDITĂŢII

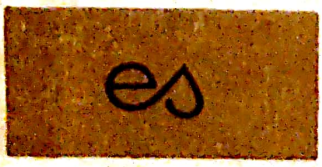
EDITURA ŞTIINŢIFICĂ

Scanned with OKEN Scanner



GENETICA, UNA DINTRE CELE MAI INTERESANTE RAMURI ALE BIOLOGIEI, A CUNOSCUT ÎN ULTIMA VREME O DEZVOLTARE IMPETUOASĂ PE PLAN MONDIAL. NUMEROŞI OAMENI DE ŞTIINŢĂ ŞI-AU ÎNCHINAT ACTIVITATEA STUDIERII COMPLEXEI PROBLEME A EREDITĂŢII ORGANISMELOR VII. DINTRE ACEŞTIA SE REMARCĂ ÎN MOD DEOSEBIT N. P. DUBININ, SAVANT DE RENUME MONDIAL, AUTORUL ACESTEI LUCRĂRI.

PORNIND DE LA REZULTATELE CERCETĂRILOR SALE EFECTUATE DE-A LUNGUL ANILOR ŞI CONSULTÎND O VASTĂ BIBLIOGRAFIE DE SPECIALITATE, N. P. DUBININ FACE, ÎN PREZENTA LUCRARE, O SINTEZĂ DE ÎNALTĂ ŢINUTĂ ŞTIINŢIFICĂ A PROGRESELOR REALIZATE DE GENETICĂ, CU IMPLICAŢII INTERESANTE ÎN PROBLEMELE



Scanned with OKEN Scanner

22.06.966
Colegului Peșteanu Viorel
pentru lumea colegialitate și
prietenie.—
ing. [illegible]

N. P. DUBININ

Genetica moleculară şi acţiunea radiaţiilor asupra eredităţii

Scanned with OKEN Scanner

TRADUCERE DE: Dr. I. JELEZNEAC

ÎNGRIJIRE ȘTIINȚIFICĂ ȘI NOTE: Prof. Dr. I. COTĂESCU

Н. П. ДУБИНИН

Молекулярная генетика и действие излучений на наследственность

Госатомиздат, 1963

Scanned with OKEN Scanner

Prefață

În ultimii ani biologia a înregistrat un neobișnuit avînt creator. În fața ei s-au deschis perspective noi, care au adus-o în pragul unor mari descoperiri. Biologia nouă, care a adîncit studiul celulei pînă la nivelul molecular, se află pe drumul rezolvării enigmei vieții și a creării unor metode care vor îngădui dirijarea integrală a eredității organismelor.

Evenimentele cele mai de seamă din biologia contemporană sînt legate de descoperiri fundamentale în domeniul eredității care, împreună cu funcția de reproducere, reprezintă baza dezvoltării vieții.

De cîteva decenii, genetica — știința despre ereditatea și variabilitatea organismelor — se ocupă de cercetarea principalelor probleme ale vieții. A fost descoperită uimitoarea organizare structurală și biochimică a eredității în acel microcosm care este celula. Menținerea continuității vieții se datorește faptului că celula-mamă transmite celulelor-fiice informația ereditară reprezentînd un program, istoricește creat, care dirijează procesele de sinteză a protoplasmei vii. Agenții chimici ai informației ereditare s-au dovedit a fi acizii nucleici, purtătorii universali ai codului genetic care, sub diferite aspecte specifice, este propriu tuturor formelor de viață de pe pămînt. Activitatea biologică a celulei, chimismul și organizarea ei structurală se întemeiază în primul rînd pe complexe protidice. S-a descoperit că sinteza proteinelor specifice este determinată de structura chimică a acizilor nucleici caracteristici celulei respective.

Cu ajutorul diferiților agenți fizici și chimici s-a dovedit că este posibilă modificarea structurii chimice a anumitor acizi nucleici, precum și a structurii biologice în care aceștia sînt localizați, și anume cromosomii nucleului celular. Aceasta a fundamentat intervenția experimentală în structurile celulare microscopice, submicroscopice și moleculare, de care sînt legate fenomenele eredității și elaborarea unor metode noi, destinate dirijării eredității organismelor.

Un loc aparte în istoria geneticii experimentale îl ocupă descoperirea faptului că radiațiile ionizante, ca radiațiile gamma, X, neutronice, alfa și altele, pătrunzînd în celulă, modifică în modul cel mai variat structura sa ereditară.

Astăzi, în epoca folosirii pe scară largă a energiei atomice, problemele geneticii legate de acțiunea radiațiilor capătă o importanță primordială. Este necesar

Scanned with OKEN Scanner

să aflăm în ce fel influenţează radiaţiile ereditatea omului. Trebuie să ştim să dirijăm evoluţia organismelor sălbatice şi domestice în condiţiile unui fond de radiaţii crescut.

Metodele bazate pe utilizarea radiaţiilor au îngăduit cercetarea proceselor care se desfăşoară în celulă la nivel molecular şi care prezintă o foarte mare importanţă biologică. Dezvoltarea geneticii a contribuit în mare măsură şi contribuie şi azi la crearea unei ştiinţe noi care abia de curînd a primit denumirea de biologie moleculară. Biologia se află în faţa unor perspective noi graţie pătrunderii în această disciplină a unor metode specifice ştiinţelor exacte, ca fizica, chimia, matematica, cristalografia şi, în ultimul timp, cibernetica.

Concepţia materialist-dialectică a arătat încă de mult că viaţa este un fenomen material şi că în organisme nu există nimic în afară de atomi şi molecule. La baza vieţii se află o interacţiune calitativ specifică a substanţelor, un întreg sistem de procese fizice şi chimice care se realizează în condiţiile unei organizări structurale şi biochimice determinate; unitatea sa elementară este celula. Iată cît de însemnate sînt problemele principale care sînt puse biologiei moleculare, aceasta fiind chemată să descopere esenţa vieţii, adică natura atomică şi moleculară a proceselor fizice şi chimice din celula vie, precum şi natura interacţiunii lor calitativ noi.

Ştiinţa contemporană a confirmat că proteinele, sub formă de enzime, alcătuiesc baza întregului biochimism celular. Un element principial nou în problema vieţii îl constituie descoperirea, în anii din urmă, a faptului că sinteza proteinelor specifice este programată în celulă de molecule ereditare sub formă de acizi nucleici, care se transmit din generaţie în generaţie de celule şi organisme. Una dintre problemele majore ale ştiinţei contemporane este aceea a modului în care structura chimică a acidului nucleic poate să determine structura chimică a fiecăreia dintre proteinele care participă la formarea celulei şi la procesele ei biochimice. Cum vom vedea mai departe, această problemă a fost rezolvată în cadrul ultimelor cercetări. Astfel, genetica şi îndeosebi acea parte a sa care cercetează natura şi funcţiile moleculelor ereditare, adică genetica moleculară, constituie miezul întregii biologii moleculare.

Este limpede că problemele centrale ale dirijării vieţii vor fi rezolvate cu ajutorul biologiei moleculare. Alături de zborurile cosmice ale omului, dirijarea reacţiei termonucleare, dezvoltarea ciberneticii ca şi de alte domenii fundamentale ale ştiinţelor contemporane ale naturii, biologia moleculară constituie una dintre principalele probleme care stau în faţa ştiinţei.

Această carte este consacrată stadiului actual al cercetărilor menite să dezvăluie natura moleculelor ereditare şi esenţa influenţei radiaţiilor asupra eredităţii. Autorul a încercat să arate cititorului torentul impetuos de neobosite cercetări contemporane într-una dintre cele mai importante ramuri ale noii ştiinţe a naturii, să menţioneze întreaga însemnătate a acestor lucrări fundamentale care deschid noi căi vieţii, ştiinţei şi producţiei. Studiile fundamentale de biologie reprezintă baza teoretică a dezvoltării medicinii şi ştiinţelor agricole. Folosirea energiei atomice şi realizarea cu succes a zborurilor cosmice impun, de asemenea, rezolvarea problemelor centrale ale biologiei. Pentru aceasta este necesar să se dezvolte în egală măsură întregul complex al ştiinţelor biologice. Principalele probleme ale acestor ştiinţe sînt studiul legilor biologice fundamentale ale dezvoltării organismelor, analiza problemelor de perspectivă ale fizicii şi chimiei organismului viu.

Scanned with OKEN Scanner

Astăzi dobîndesc o importanță din ce în ce mai mare domenii ale științei ca biochimia, biofizica, genetica, microbiologia, virusologia și imunologia, care studiază structura intimă și funcțiile materiei vii la toate nivelele sale de dezvoltare.

Autorul ar fi cu adevărat fericit dacă această carte ar atrage noi cercetători tineri către lucrări privind cele mai importante probleme ale științei din domeniul geneticii moleculare și al radiațiilor.

Scanned with OKEN Scanner

Introducere

Natura eredității — una dintre principalele proprietăți ale vieții — a trezit de mult interesul omului.

Posibilitatea de a dirija ereditatea cuprinde perspective uriașe din punct de vedere practic, dar, pentru ca omul să stăpînească procesele evoluției, trebuie să lămurească esența acestui fenomen fundamental al vieții. Prima enigmă a eredității, evidentă în viața cotidiană, este uimitoare: pentru ce copiii seamănă cu părinții lor, fără însă a fi aidoma lor, ci prezentînd trăsături individuale? Cu alte cuvinte, cum se îmbină ereditatea cu variabilitatea și care este esența legilor eredității și variabilității ereditare a organismelor?

A doua mare enigmă a eredității este legată de dezvoltarea individului. Dezvoltarea, care începe cu o celulă fecundată, duce la formarea organismului adult al speciei date, cu întregul său complex de însușiri ereditare specifice și individuale. Cum se realizează în acest caz dirijarea dezvoltării? În ce mod programează ereditatea procesele de dezvoltare a individului? În ce fel de relație intră această programare, condiționată ereditar, cu informația venită din mediul extern?

A treia mare enigmă a eredității este legată de problema bazelor materiale ale eredității în celulă. În ce fel și în ce structuri moleculare din interiorul celulei este „înscrisă" informația genetică (ereditară) privind întreaga istorie precedentă, toate rezultatele evoluției unei specii? Orice ovul fecundat dă naștere unui individ aparținînd exclusiv speciei date, creată în procesul unei evoluții care s-a desfășurat de-a lungul întregii existențe a vieții pe pămînt.

Celula* este o formațiune microscopică, cu diametru de aproximativ 10 μ (micronul este egal cu a zecea mia parte dintr-un centimetru), care la exterior are aspectul unui sistem simplu. În esență, ea este alcătuită din citoplasmă și nucleu. Dar tocmai celula reprezintă baza vieții. În celulă sînt concentrate cele mai importante manifestări ale vieții. Sinteza proteinelor, a acizilor nucleici,

*Celulele au dimensiuni foarte variate, de la cîțiva microni pînă la mai multe zeci sau chiar sute de microni. Cu prelungirile lor, celulele nervoase din corpul omului pot avea pînă la 2 m lungime. Cele mai multe celule au diametrul cuprins între 20 și 50 μ.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

a lipidelor, a glucidelor și a altor substanțe, totul se petrece în celulă. Aceasta arată că de fapt fiecare celulă este un sistem chimic din cele mai complexe, posedînd o uimitoare organizare internă, atît a citoplasmei, unde acționează sistemele chimice fundamentale, cît și a nucleului, de unde pleacă principalele impulsuri de programare. Nucleul* transmite în citoplasmă informația care determină sensul sintezei proteinelor și al altor substanțe. Prin aceasta, nucleul programează fiziologia și biochimia celulei, precum și procesele de dezvoltare a individului.

Nucleul celular cuprinde structuri moleculare în care este înregistrată informația ereditară.

Pentru a ne reprezenta ordinul de mărimi pe care le întîlnim în analiza fenomenelor ereditare la nivelul molecular, ne vom referi la volumul acizilor nucleici care alcătuiesc materialul genetic al omului actual. Conținutul în acizi nucleici al unei celule sexuale umane ocupă un volum de aproximativ un sfert de micron cub (în greutate de $4 \cdot 10^{-12}$ g). Populația globului pămîntesc va atinge curînd cifra de trei miliarde de oameni ($3 \cdot 10^9$). Nașterea acestui număr de oameni se bazează pe $6 \cdot 10^9$ gameți ($3 \cdot 10^9$ ovule și $3 \cdot 10^9$ spermatozoizi). Volumul total al acizilor nucleici conținuți în aceste șase miliarde de celule sexuale este de 2,4 mm^3, iar greutatea lor totală este de numai 24 mg. Astfel, într-un volum egal cu volumul unei jumătăți de picătură de ploaie este inclusă întreaga bază materială care asigură transmiterea informației genetice pentru trei miliarde de oameni.

Pentru toate formele de viață de pe pămînt, în substanța nucleară și, mai precis, în acizii nucleici, în structuri moleculare infime ca volum, cu o economie surprinzătoare pe care ar putea-o invidia orice mașină cibernetică modernă, sînt „înregistrate" rezultatele întregii istorii a speciei. Această substanță reprezintă punctul de plecare, biochimic activ, care determină specificul vieții celulare. Transformîndu-se sub influența mediului extern, sistemul de molecule în care este înscrisă informația genetică servește drept bază moleculară a evoluției organismelor. Comandînd procesele de variabilitate ereditară prin selecția abaterilor optime, omul transformă în mod dirijat substratul material al eredității și creează noi forme de plante, animale și microorganisme.

Vedem deci că ereditatea stă la baza principalelor fenomene ale vieții. Nucleul care a acumulat rezultatele dezvoltării istorice a speciei ocupă totodată pozițiile cheie în fiziologia și biochimia celulară; el programează procesele de dezvoltare ontogenetică și asigură transmiterea însușirilor ereditare din generație în generație. Modificarea structurilor nucleare constituie baza evoluției și selecției.

Iată de ce genetica — știința eredității și variabilității organismelor — s-a dovedit a fi absolut necesară pentru toate științele biologice care studiază un aspect sau altul al vieții.

Citologia — știința celulei, fiziologia — știința funcțiilor organismului, virusologia — știința virusurilor, adică a organismelor care nu au structură celulară, biochimia — știința proceselor chimice proprii organismului viu, biofizica — știința fenomenelor fizice care stau la baza vieții, embriologia — știința dezvoltării organismelor, zoologia — știința care studiază animalele, botanica — știința plantelor, teoria evoluției și paleontologia — științele care se ocupă de istoria, formele și căile de dezvoltare ale lumii organice, selecția — știința metodelor

* Numai sinteza proteinelor este dirijată de nucleu și în primul rînd a proteinelor-enzime. Sinteza intracelulară a tuturor celorlalte micro- și macromolecule este rezultatul activității enzimatice înlănțuite. —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

de obținere a unor noi forme de plante, animale, microorganisme și virusuri — și alte științe biologice moderne includ teoria și metodele geneticii. Pe de altă parte, chiar în genetică sînt create și se dezvoltă cu mare succes domenii ca genetica biochimică, genetica evoluționistă, bazele genetice ale selecției, genetica imunologică, genetica cancerului — acest teribil dușman al omului — genetica microbilor și virusurilor, radiogenetica, care studiază influența radiațiilor asupra eredității omului, animalelor, plantelor, microorganismelor, virusurilor etc.

Atunci cînd caracterizăm ereditatea este necesar să evităm o greșeală: se crede uneori că prin ereditate se înțelege numai transmiterea caracterelor de la părinți la copii, că ar fi deci o proprietate exclusivă a celulelor germinale.

Întrucît ereditatea este înscrisă în nucleul celulei și oferă programul dezvoltării acesteia, ea se manifestă în orice celulă, indiferent dacă e vorba de o celulă germinală de la care derivă generațiile viitoare sau de una corporală, ce participă numai la dezvoltarea unui individ dat și piere o dată cu acesta.

Celulele germinale se mai numesc și celule sexuale, iar celulele corporale poartă numele de celule somatice. Nucleul este constituent obligatoriu al oricărei celule: fără el, celula piere în scurt timp. Prin urmare, un sistem ereditar complet, caracteristic speciei date, există în fiecare celulă a corpului, la fel ca în fiecare celulă sexuală.

Importanța eredității pentru transmiterea caracterelor de la părinți la copii este evidentă. Totuși, rolul eredității în viața organismului în dezvoltare și a organismului adult este încă insuficient studiat, deși acest rol este covîrșitor. Importanța eredității va fi limpede dacă vom înțelege semnificația faptului că nucleul, care reprezintă sistemul ereditar al organismului, există în fiecare din miliardele de celule care alcătuiesc corpul organismului adult, și fiecare din aceste nuclee participă la programarea dezvoltării individului și ocupă poziții cheie în fiziologia și chimia fiecăreia din cele $6 \cdot 10^{13}$ celule care alcătuiesc corpul omului.

Mai mult decît atît, informația ereditară trebuie nu numai să asigure dezvoltarea individului, ci să contribuie și în cursul întregii vieți a organismului la menținerea individualității sale. În corpul omului adult apar în fiecare 24 de ore aproape $5 \cdot 10^{11}$ celule noi și pier tot atîtea celule îmbătrînite. Ansamblul celulelor funcționale din sînge, din țesuturile epiteliale, din oase și dintr-o serie de alte țesuturi este înlocuit în întregime în cursul unui an. Astfel, cu excepția celulelor creierului, ale mușchilor și ale altor cîtorva țesuturi, toate celelalte celule ale fiecăruia dintre noi sînt înlocuite în cursul unui an cu altele noi. Este ușor de înțeles cît de mare trebuie să fie capacitatea de iterație a specificului celular, ca și posibilitatea ivirii diferitelor modificări ereditare în cadrul gigantelor populații celulare ce se înlocuiesc fără încetare și din a căror permanentă mișcare este alcătuit corpul fiecărui om.

Este evidentă uriașa importanță a unei funcționări normale a nucleelor în toate celulele somatice. Sînt nete pierderile pe care le poate suferi organismul dacă în diferite țesuturi activitatea nucleului este perturbată sau modificată în sensul apariției unor funcții străine pentru țesutul dat. Într-un asemenea caz, nucleul începe să programeze apariția unei informații străine pentru organismul normal; această informație poate scoate celula de sub controlul legilor de reglare a căror acțiune asigură viața organismului în întregime. Ia naștere astfel celula canceroasă; ea are un caracter malign și ucide organismul în care s-a ivit. În viața celulei somatice normale, cu timpul, canalele informației par a se

îmbîcsi și apar modificări nocive ireversibile, care se acumulează treptat. Se produce procesul de îmbătrînire. În unele cazuri chiar nucleul rezultat în celula inițială prin fecundarea ovulului de către spermatozoid se dovedește a fi, într-o anumită măsură, deficitar. Ca urmare, dezvoltarea este perturbată în diferite stadii, celulele somatice sînt parțial lipsite de informația necesară. De exemplu, dacă în celulele omului nu se elaborează enzima care transformă fenilalanina* în tirozină, organismul se îmbolnăvește de o boală ereditară gravă, fenilcetonuria, care duce adesea la idioție.

Toate acestea arată cît de mare este importanța geneticii celulelor somatice. Celulele corpului — celulele somatice — se deosebesc printr-o serie de caractere de celulele sexuale, de aceea genetica celulelor somatice a luat în prezent proporțiile unui vast domeniu al geneticii.

În studiul transmiterii caracterelor de la părinți la copii și în cercetarea problemelor de genetică a celulelor somatice avem adeseori de-a face cu proprietățile și cu particularitățile întregului organism. Se poate spune că în acest caz problemele eredității sînt studiate la nivelul organismului. Totuși numeroase forme de viață au o organizare monocelulară (bacteriile, protozoarele, algele monocelulare și alte cîteva organisme). Mai mult decît atît, toate organismele pluricelulare, inclusiv organismul omului, trec în decursul vieții lor printr-o fază monocelulară — cea a oului fecundat. Aceasta arată că enigma substratului material al eredității, a naturii substanței nucleare în care este înscrisă informația ereditară, a bazelor programării de către nucleu a procesului ontogenetic, a biochimiei și fiziologiei celulare — toate acestea sînt legate de celulă. Ajungem astfel la problema eredității la nivelul celular.

Dar aceasta este încă departe de a fi totul. Cum sînt organizate bazele materiale ale eredității în interiorul celulei? Se știe că pentru viața celulei și pentru asigurarea dezvoltării unui organism complex este necesară programarea coordonată a mii de procese elementare în citoplasma fiecărei celule în parte și în tot organismul. Cum se realizează aceasta, care este acea organizare structurală, biochimică și biofizică a nucleului și a citoplasmei care asigură existența uimitorului microcosm al fenomenelor extrem de complexe din viața celulei, microcosm creat în decursul unor îndelungate procese de evoluție?

Studiind aceste probleme, trecem de la nivelul celular la nivelul subcelular al organizării structurale, chimice și fizice a eredității. Cel mai mare succes al geneticii din zilele noastre constă în aceea că după stabilirea legilor de transmitere a caracterelor de la părinți la copii, după descoperirea bazelor celulare (citologice) ale eredității, au fost studiate bazele ei moleculare fizico-chimice. Studiind organizarea fizico-chimică și specificul biologic al moleculelor ereditare, genetica moleculară contemporană a deschis noi perspective întregii biologii. Ea îmbină analiza specificului biologic cu fizica, chimia și cibernetica vieții. Genetica moleculară creează posibilitatea reală de rezolvare definitivă a problemelor fundamentale privitoare la organizarea fizică și chimică și la funcțiile substanțelor care alcătuiesc structurile nucleare. Ea este chemată să dezvăluie secretul „memoriei ereditare", adică să descopere cum se înscrie in-

* Fenilalanina este un aminoacid nesintetizabil în organismul omenesc dar necesar pentru că intră în structura proteinelor. Metabolizarea fenilalaninei începe prin transformarea ei în tirozină (hidroxifenilalanină), aminoacid din care se sintetizează hormonii tiroidieni (iodtironinele), adrenalina (și noradrenalina) și melanina (pigmentul care dă culoarea pielii, părului și ochilor). Lipsa enzimei care transformă fenilalanina în tirozină face ca fanilalanina să fie transformată prin dezaminare oxidativă în acid fenilpiruvic, iar acesta eliminat prin urină. Se vorbește de fenilcetonurie pentru că acidul fenilpiruvic este acidul α-cetofenilpropionic.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

formația genetică în moleculele structurilor nucleare ale celulei. Genetica moleculară cercetează modul în care informația la nivelul molecular se transmite din nucleu în citoplasmă, în ce fel, în cursul înmulțirii celulei, nucleul inițial se transformă în două nuclee fiice, în care se păstrează cu o extremă precizie — în fiecare — structura lor moleculară cu informația ereditară completă, și, în sfîrșit, care este esența apariției proprietăților ereditare, care este baza moleculară a variabilității ereditare și a evoluției.

Sarcina cea mai importantă a geneticii, a biologiei în ansamblu și chiar a întregii științe contemporane a naturii constă în elaborarea unor metode care să îngăduie o atare stăpînire a proceselor vitale, încît să devină posibilă modificarea organismelor în sensul dorit, necesar omului, și obținerea unor forme organice noi. Marile succese realizate de selecție constituie un început în acest domeniu. Utilizînd metode de triere individuală, de alegere a perechilor la încrucișare, de hibridare îndepărtată și așa mai departe, selecția obține formele dorite prin alegerea devierilor necesare dintr-un variat material inițial. Selecționatorii au ajuns la rezultate minunate: noi soiuri de plante, noi rase de animale și noi tulpini microbiene.

Cu toată importanța lor științifică și practică, aceste succese sînt departe de a corespunde sarcinii grandioase de transformare dirijată a vieții. Problema dirijării radicale a bazelor fenomenelor vitale prin transformarea eredității organismelor poate fi rezolvată numai prin descoperirea tainelor geneticii moleculare.

Cunoaștem acum natura moleculară și atomică a substanțelor din care sînt formate structurile nucleare ale celulei. Care sînt factorii fizici și chimici capabili să modifice aceste structuri în așa fel încît să se obțină transformarea dirijată a eredității?

Științele naturii au ridicat în zilele noastre noi și vaste probleme care au însemnătate pentru întreaga existență a omului. După rezolvarea problemei energiei nucleare s-a pus problema obținerii reacției termonucleare dirijate. Această reacție se desfășoară în soare și în stele, unde se degajează energii gigantice prin sinteza nucleelor atomice din nucleele ușoare de hidrogen* și deuteriu. Cu ajutorul exploziilor nucleare a fost realizată reacția termonucleară nedirijată. Principalul în problema reacției termonucleare dirijate constă în a menține desfășurarea sa controlată, lină, în care scop, într-un volum mic de substanță, trebuie să se păstreze o temperatură de cîteva milioane de grade. În oceane, resursele de hidrogen greu sînt inepuizabile. Prin rezolvarea problemei reacției termonucleare dirijate omenirea se va elibera pentru totdeauna de grijile pe care i le pricinuiesc dificultățile legate de folosirea surselor de energie. În sinteza nucleară se va descoperi o sursă inepuizabilă de energie, pentru eternitate.

O realizare majoră a științei și tehnicii a constituit-o rezolvarea problemei zborurilor cosmice. Pătrunderea omului în spațiul cosmic a început la 12 aprilie 1961 prin zborul primului cosmonaut sovietic. Acum, în fața noastră stă sarcina de a pătrunde în adîncul universului. Se știe că utilizarea unor noi reacții chi-

---

* Nucleul hidrogenului este format dintr-un singur proton. Hidrogenul greu sau deuteriul are nucleul format dintr-un proton și un neutron. Formarea nucleelor mai grele din protoni și neutroni este însoțită de transformarea unei părți din masa acestora în energie radiantă. Astfel, la formarea nucleului de heliu (2 protoni + 2 neutroni) pentru fiecare 4 g, pierderea de masă (sau defectul de masă) este de 0,03 g și energia radiată corespunzătoare, de $6{,}5 \cdot 10^8$ kcal, adică energia necesară pentru a ridica temperatura a 6 500 t de apă de la 0°C la 100°C.

Hidrogenul greu (deuteriul) împreună cu oxigenul formează apa grea. Apa oceanelor conține și apă grea folosită ca sursă a deuteriului întrebuințat în reacțiile termonucleare nedirijate și dirijate, care sînt reacții de sinteză a nucleelor de heliu.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

mice de ardere în actualele motoare ale rachetelor a constituit o realizare capitală, care a asigurat ieșirea omului în cosmos. Totuși, zborurile ulterioare cer noi soluții și în domeniul motoarelor navelor cosmice. Întinderile universului sînt nemărginite; este necesară o viteză comensurabilă cu întinderile sale infinite. O asemenea viteză o au oscilațiile electromagnetice sub forma fotonilor. În fața științei stă sarcina de a construi un motor fotonic în care drept masă reactivă vor servi fotonii — cuantele de lumină.

Motoarele electrorachetelor plasmatice * și nucleare vor asigura viteze uriașe în spațiul cosmic. Totuși, zborul către sistemele stelare ar fi posibil numai pe nave cu motoare fotonice.

Știința contemporană s-a dezvoltat colosal. Succesele ei relevă posibilitățile nelimitate ale geniului uman. Viața ridică probleme fantastice sub raportul conținutului lor care, cu numai două-trei decenii în urmă, ar fi provocat zîmbete ironice. Și totuși, în prezent știința găsește căi reale și rezolvă aceste probleme. Pot servi ca exemplu stăpînirea energiei nucleare, descoperirea bazelor moleculare ale eredității, construirea instalațiilor cibernetice, apariția unor preparate terapeutice cum sînt antibioticele, obținerea vaccinurilor vii și, în sfîrșit, zborurile cosmice ale omului.

Sîntem în stare să provocăm experimental apariția unor modificări ereditare noi în organisme cu ajutorul unor acțiuni fizice, chimice și biologice, prin modificarea condițiilor din mediul înconjurător, precum și pe calea încrucișării și hibridării îndepărtate. Totuși, în toate cazurile, fundamentală este selecția, alegerea pentru formarea raselor și soiurilor. Aceste transformări nu sînt suficient de profunde, noi nu creăm specii noi, nu putem crea toate proprietățile necesare și nu sîntem în stare să modificăm radical proprietățile vieții.

Dificultatea constă în aceea că, fără acțiunea diriguitoare a selecției, variabilitatea ereditară singură nu poate fi încă reglată; nu putem obține un flux de modificări dirijate.

A rezolva problema obținerii de modificări ereditare dirijate înseamnă a învăța să comandăm viața. Aceasta este sarcina cea mai pasionantă, cea mai fantastică și cea mai imperioasă a științelor contemporane ale naturii. Un asemenea obiectiv va fi adus la îndeplinire prin eforturile comune ale geneticii, citologiei, chimiei, fizicii, ciberneticii și ale altor științe. Realizarea acestei sarcini va face ca viața să intre în stăpînirea omului. Vom crea forme de animale, plante și microorganisme cu o productivitate nemaiîntîlnită, forme feerice de flori, arbori, arbuști, mușchi, alge, pești, păsări, alte animale și microorganisme care vor înfrumuseța la infinit viața pe pămînt. Organismele dușmane, în special microbii și virusurile, vor fi transformate în ființe inofensive sau utile. Plaga omenirii care este cancerul va fi învinsă nu numai prin tratament, ci și prin crearea unor astfel de condiții în interiorul țesuturilor, încît degenerarea lor canceroasă datorită modificării eredității celulare să devină imposibilă. Bolile ereditare ale omului vor dispărea. Nu numai bolile infecțioase, dar nici cele de origine internă nu vor mai exista. Factorii îmbătrînirii vor ceda în fața măsurilor care să asigure plenitudinea interacțiunii complexe dintre nucleu și citoplasmă, în fața fluxului viguros de informație ereditară juvenilă, de lungă durată, care

---

* Plasma este starea de agregare a materiei în care atomii sînt total ionizați (lipsiți de norul electronic), stare în care sînt posibile reacțiile termonucleare de sinteză nucleară sau de fuziune, spre deosebire de reacțiile nucleare de fisiune, adică de formare de atomi mai ușori din atomi foarte grei, ca cel de uraniu 235 (U_{92}^{235}). Reacțiile nucleare de fisiune sînt perfect dirijabile și servesc ca sursă de energie în centralele atomo-electrice. —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

leagă nucleul de citoplasma celulelor. Omul va trăi mult, păstrîndu-și sănătatea și tinerețea.

Cînd cosmonauții vor apărea pe alte planete și în alte lumi, ei vor întîlni o viață diferită. Cum este această viață, ce consecințe va avea contactul ei cu viața de pe Pămînt? Ce va aduce Pămîntul pentru viața altor lumi și ce anume va primi el însuși? În aceste condiții, aplicarea metodelor de transformare dirijată a vieții poate avea o însemnătate hotărîtoare.

Este posibil ca însuși accesul la lumile îndepărtate să ne oblige la dirijarea în timpul zborului a variabilității și ereditații organismelor care intră în componența biocomplexului închis în navă. Zborurile îndelungate prin spațiile universului vor cere ca omul să fie însoțit în nava lui de organisme-sateliți. Este oare posibilă o dirijare îndelungată a sistemului ecologic al acestei mici lumi, prin mijloace obișnuite, în răstimpul care se va scurge pînă în clipa în care nava va atinge alte sisteme stelare?

Obiectivele pe care le va pune în fața științei problema conducerii dirijate a ereditații pătrund cu rădăcinile lor în organizarea fizică și chimică a bazelor materiale ale ereditații din interiorul celulei. Genetica moleculară reprezintă un torent de cercetări, ce sporește pe zi ce trece, conducîndu-ne la rezolvarea celei mai mari enigme a științei contemporane — modificarea dirijată a ereditații. Astfel, va fi realizată cea mai grandioasă victorie a geniului uman: viața de pe pămînt, formele ei, prezentul și viitorul ei se vor afla în mîinile omului.

Universul reprezintă unitatea naturii și de aceea relațiile reciproce dintre științele contemporane în studierea acestei unități sînt excepțional de strînse. Genetica moleculară cercetează specificul ereditații — una din proprietățile esențiale ale vieții. Totodată ea are sarcina de a descoperi conexiunea generală a unor forme calitativ diferite de mișcare a materiei. Ea studiază legătura efectivă dintre procesele biologice, fizice și chimice în ereditate. De aceea, este limpede că marile descoperiri din fizică și chimie deschid deseori noi perspective în genetica moleculară. Chimia coloranților a permis să se lămurească structura nucleului celular, deoarece părțile lui componente — cromosomii * — se colorează cu coloranți bazici. În felul acesta, structura cromosomilor, particularitățile fundamentale ale compoziției lor chimice și ale comportării lor în momentul diviziunii celulare au devenit accesibile studiului microscopic. Analiza chimică a nucleelor izolate a permis să se determine cu precizie compoziția chimică a cromosomilor din care este format nucleul. Apariția microscopului electronic** a făcut vizibilă lumea pînă atunci invizibilă a virusurilor și a structurilor biologice moleculare. Analiza chimică și analiza structurală cu radiații X a acizilor nucleici au dezvăluit enigma bazelor moleculare ale ereditații. Autoradiografia permite urmărirea modului în care izotopii radioactivi pătrund în structurile nucleului celular și apoi, în urma diviziunii acestuia, repartiția substanțelor marcate între nucleele-fiice prin obținerea de urme pe emulsii sensibile. Astfel a fost dezlegată taina autoreplicării *** (autoreproducerii) cromosomilor. În rîn-

* Cromosomii (ca în general nucleoproteidele) au afinitate pentru coloranții bazici din cauza acidului fosforic din compoziția acizilor nucleici. —*N.R.*

** Cu microscopul electronic se obțin detalii structurale prin impregnare cu atomi grei, opaci pentru radiația electronică (cum ar fi atomii de osmiu) pentru că moleculele organice sînt transparente. Din această cauză structura moleculară a protoplasmei continuă să fie de ordin submicroscopic, dar indirect descifrabilă prin confruntarea imaginilor de microscopie electronică cu rezultatele altor metode de investigație, cum ar fi microscopia în lumină polarizată.—*N.R.*

*** Replicarea, autoreproducerea sau autoduplicarea se referă la reproducerea de nuclee identice și nu la mecanismul reproducerii care implică acțiunea directă coordonată a unor enzime și indirect activitatea întregului aparat enzimatic celular.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

dul acestor evenimente datorite relațiilor reciproce ale geneticii cu fizica și chimia, un loc deosebit îl ocupă influența radiațiilor asupra eredității. Au trecut mai bine de 30 de ani de cînd, folosindu-se ciuperci inferioare, *Drosophila melanogaster* și porumbul, s-a demonstrat că ereditatea acestora este modificată prin pătrunderea în celulă a radiației Roentgen.

A fost creat un nou domeniu de cercetări, care studiază influența radiațiilor asupra eredității. În ultimii ani, datorită colosalei dezvoltări a fizicii nucleare, acest domeniu s-a constituit într-o știință distinctă, denumită radiogenetică. Marile succese ale acestei științe sînt legate de faptul că în radiația ionizantă cercetătorii au găsit un mijloc puternic, sub acțiunea căruia apare un număr imens de modificări ereditare noi la cele mai diferite organisme. Cercetarea microscopică a modificărilor apărute sub acțiunea radiațiilor în nuclee, ca și în cromosomii luați separat, a contribuit foarte mult la o înțelegere aprofundată a bazelor citologice ale eredității. Radiațiile s-au dovedit a fi un fel de bisturiu de nivel molecular care modifică structura vizibilă la microscop a cromosomilor, permițînd pătrunderea în taina organizării și funcțiilor lor.

În ultimele două decenii situația s-a schimbat însă radical. Problema influenței radiațiilor asupra organismului a depășit cu mult cadrul cercetărilor experimentale și a devenit una din problemele vitale de uriașă importanță, deoarece omenirea a intrat în era folosirii practice a energiei atomice.

Energia atomică din sursele artificiale create de om exercită o influență din ce în ce mai mare asupra omenirii și asupra întregii lumi organice de pe pămînt. Este necesar să se cunoască modul în care dozele mai mici și mai mari de radiații vor influența ereditatea omului. Cum se va desfășura evoluția plantelor, animalelor, microorganismelor și virusurilor în condiții noi, în cazul creșterii fondului de radiații? Ce forme noi de plante de cultură, de animale domestice și de microorganisme utile trebuie create pentru a corespunde acestor condiții noi? Cum trebuie să fie combătute noile forme de microbi patogeni, determinate de acțiunea radiațiilor, forme care pot să apară în condiții naturale o dată cu creșterea fondului de radiații?*

Cînd puternicele nave cosmice vor zbura spre Lună, Venus, Marte, spre alte planete și spre alte lumi, cosmonauții și organismele care-i însoțesc — alge verzi monocelulare, microbi și alte organisme — vor avea de înfruntat „ploi" de radiații cosmice slabe, dar de durată și, uneori, de vădită intensitate. Știința noastră trebuie să cunoască influența acestor radiații asupra eredității organismelor; ea trebuie să fie în stare să protejeze ereditatea împotriva lor și împotriva acțiunii altor factori ai zborului cosmic.

Care sînt formele de viață pe alte planete și în alte lumi și care este rolul radiațiilor în evoluția vieții din univers?

Așadar, datorită realizărilor științifice și practice ale fizicii nucleare, cercetarea problemei influenței radiațiilor asupra eredității a devenit una din principalele sarcini ale întregii științe actuale și viitoare a naturii.

Dar și pentru rezolvarea sarcinii noastre principale, obținerea dirijată a modificărilor ereditare, munca în domeniul radiogeneticii are o însemnătate covîrșitoare. Interacțiunea cuantelor de energie înaltă ale unor oscilații electromagnetice ca radiațiile Roentgen și radiațiile gamma, precum și interacțiunea

---

* Prin fond natural de radiație se înțelege mai ales intensitatea radiației cosmice. La acesta se adaugă radiația reacțiilor nucleare produse de om. În urma exploziilor atomice (de fisiune) și termonucleare (de fuziune) în atmosferă crește fondul de radiație. Aceasta a dus la convenția de încetare a exploziilor nucleare și termonucleare în aer, apă și în Cosmos.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

radiațiilor corpusculare — neutronice, electronice, protonice — și ale altor felur de radiații care pătrund în celulă, cu substanțele care alcătuiesc corpul cromosomilor se realizează la nivel molecular. Radiațiile reprezintă un mijloc valoros de cunoaștere și de modificare a structurii moleculare a eredității. În afară de aceasta, pe lîngă o intensificare considerabilă a variabilității nereglabile în anumite condiții, am început să sesizăm în structurile moleculare ale eredității și unele procese elementare care pot fi reglate prin acțiunea radiațiilor asupra celulei vii.

Radiațiile și genetica moleculară sînt legate între ele. Cercetările din domeniul geneticii moleculare al radiogeneticii oferă calea care va duce la rezolvarea sarcinii de a obține anumite modificări ereditare ale organismelor (mutații dirijate). Radiogenetica, avînd o semnificație independentă, constituie una din problemele importante ale întregii științe contemporane.

Ce este genetica moleculară și radiogenetica? Care sînt noile domenii ale fenomenelor biologice și ereditare descoperite cu ajutorul acestor cercetări dirijate? Care sînt perspectivele reale de stăpînire a vieții deschise de ele? Cum a contribuit interacțiunea dintre genetică, citologie, chimie, fizică și cibernetică la saltul uriaș în dezvoltarea problemei biologice a esenței eredității și la ce va duce dezvoltarea ulterioară a lucrărilor în aceste domenii? De ce atenția celor mai mari teoreticieni — fizicieni, chimiști și matematicieni — este atrasă acum de obiectivele biologiei și în primul rînd de problemele geneticii moleculare? Ce ascunde în sine realizarea unor modificări determinate în ereditatea organismelor?

Iată întrebările la care autorul ar vrea să răspundă în această carte. Vom încerca împreună cu cititorii să lămurim ce este genetica moleculară, cum modifică radiațiile fizica și chimia cromosomilor. Dacă vom înțelege aceste probleme, vom pătrunde în miezul noii științe a vieții.

În comunism, fiecare om va crea. Știința va avea un caracter de masă. În rîndul problemelor noii științe vor figura și cele ale geneticii moleculare. Această știință progresează necontenit. Este bine să ne pregătim pentru înțelegerea sarcinilor sale, să participăm la rezolvarea lor. Genetica experimentală a și dat foarte mult vieții și practicii. Ne referim la metodele de selecție științifică a animalelor și a plantelor, la elaborarea metodelor de transformare a proprietăților microorganismelor, la dezvoltarea geneticii medicale, la studiul problemelor legate de acțiunea radiațiilor asupra eredității și la alte domenii de importanță vitală. Datorită influenței sale asupra vieții, practicii și științei, genetica experimentală face parte dintre cele mai importante discipline științifice contemporane, urmînd după cibernetică, fizica nucleară, electronică, radiotehnică și alte științe noi. Rolul geneticii experimentale crește însă necontenit, deoarece munca în domeniul geneticii moleculare și al radiogeneticii poate da rezultate de importanță capitală. Cînd problema modificării dirijate a însușirilor ereditare ale organismelor va fi rezolvată, viața, tehnica și producția vor căpăta baze noi și va începe era controlului și comenzii reale asupra vieții de pe pămînt.

Să vedem deci cît am parcurs din drumul care duce la rezolvarea acestor mari probleme ale științei și ce căi de viitor deschide știința zilelor noastre.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL I

Bazele moleculare ale eredităţii

1. Celula ca bază a vieţii

Viaţa este una din formele de mişcare ale materiei care, în comparaţie cu natura nevie, posedă o calitate specială ce apare pe baza interacţiunii substanţelor în condiţiile unei organizări specifice. În materia vie, unitatea dintre formă şi conţinut se manifestă cu deosebită claritate. Forma de organizare celulară a vieţii s-a dovedit a fi generală. Pe drept cuvînt se poate spune că în afara celulei nu există viaţă. Trăsăturile principale care caracterizează structura celulelor şi care determină posibilitatea realizării proceselor coordonate ce alcătuiesc baza fenomenelor vitale sînt identice pentru animale, plante şi microorganisme.

Organizarea oricărei celule este legată de o profundă diferenţiere a corpului (sau protoplastului) ei. Celula este un microcosm extrem de complex. Pentru realizarea proceselor vitale trebuie să intervină numeroase reacţii chimice în cursul cărora un mare număr de substanţe se descompun şi se sintetizează. La baza desfăşurării fenomenelor biologice stă un tip calitativ specific bine determinat de schimburi de substanţe.

Utilizarea izotopilor radioactivi * a dovedit că reacţiile chimice prin care se realizează metabolismul celular se desfăşoară cu viteze neobişnuit de mari. Coordonarea proceselor celulare şi caracteristicile lor de specie şi individ se bazează pe un sistem de comandă foarte complex. Acest sistem de comandă este alcătuit dintr-un număr foarte mare de compuşi proteinici speciali, cu caracter complex, numiţi enzime, fermenţi sau catalizatori. Intrarea în acţiune în mod organizat a diferitelor enzime este cauza marii stabilităţi şi a capacităţii de autoreglare a proceselor care se desfăşoară în celulă.

Procesele metabolice nu ar fi posibile dacă nu ar exista o organizare internă a celulei. Procesele biologice demonstrează unitatea de nezdruncinat dintre structură şi funcţie, unitate care stă la baza menţinerii vieţii, stabilităţii, autoreglării şi dezvoltării ei.

---

* Cea mai largă utilizare o au moleculele organice marcate cu carbon radioactiv, azot radioactiv, sulf radioactiv şi hidrogen radioactiv. Aceeaşi moleculă organică poate fi marcată cu doi izotopi radioactivi diferiţi. Pentru obţinerea unei molecule marcate se face sinteza ei utilizînd elemente radioactive artificiale sau compuşii lor corespunzători. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

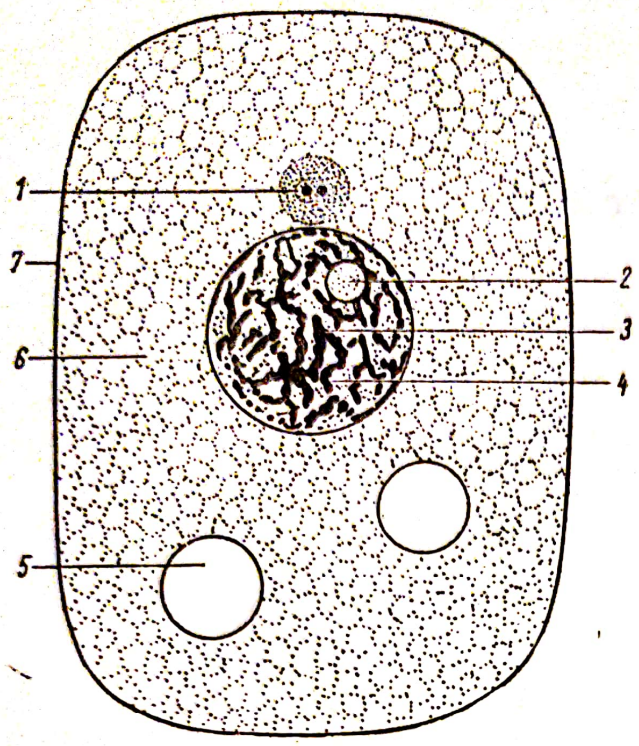


Fig. 1. Structura celulei, examinată la microscopul optic:
1 — centrosom; *2* — nucleol; *3* — nucleu *4* — cromatină; *5* — vacuolă; *6* — citoplasmă; *7* — membrană.

Care sînt principalele trăsături ale organizării structurale a celulei?

Studierea structurilor celulare cu microscopul optic pe preparate colorate, folosirea microscopului cu radiaţii ultraviolete şi a microscopului electronic *, izolarea prin centrifugare a diferitelor părţi ale celulei şi utilizarea a numeroase alte metode au oferit o imagine amănunţită a organizării celulare.

Principalele părţi ale celulei sînt citoplasma şi nucleul inclus în ea. Toate fenomenele vitale importante, cum sînt respiraţia, excitabilitatea, asimilarea energiei şi a substanţelor din mediul extern, sinteza protidelor, lipidelor, glucidelor, vitaminelor şi altor substanţe se desfăşoară, în general, în citoplasmă.

În decursul ultimelor două-trei decenii, cunoştinţele noastre despre structura, biochimia şi genetica celulară s-au îmbogăţit în mod fabulos. În fig. 1 este reprezentată schema structurii celulare, descrisă în cea mai bună monografie consacrată rolului celulei în dezvoltare şi în ereditate, publicată în 1922 (E. W i l s o n, *Celula şi rolul ei în dezvoltare şi ereditate*). În această schemă se vede celula compusă din citoplasmă, nucleu şi membrana care separă corpul celular de mediul exterior.

În prezent microscopia electronică a descoperit numeroase particularităţi ale structurii celulare, necunoscute în trecut. În fig. 2 se poate vedea imaginea celulei după datele actuale. Observăm că citoplasma are structură diferenţiată;

* Puterea de rezolvare (distanţa cea mai mică la care două puncte pot fi văzute distinct) este dependentă pentru microscopul optic de lungimea de undă a luminii: puterea de rezolvare este aproximativ egală cu jumătatea lungimii de undă. Utilizînd lumina vizibilă, puterea de rezolvare este cuprinsă între 0,4 şi 0,2 μ, în funcţie şi de colorantul folosit: pe preparatele colorate cu coloranţi care absorb radiaţiile de lungime mare de undă şi reflectă pe cele cu lungime mică de undă (coloranţii care colorează în albastru-indigo-violet) se observă cele mai fine amănunte (puterea de rezolvare între 0,3—0,2 μ). Folosind radiaţii ultraviolete în microscoape cu lentile de cuarţ (sticla este netransparentă pentru radiaţia ultravioletă) şi fotografiind imaginile, se poate mări puterea de rezolvare pînă la 0,1—0,05 μ (pentru radiaţii cu lungimea de undă cuprinsă între 0,2—0,1 μ). Puterea de rezolvare a microscoapelor electronice ajunge pînă la 0,001 μ (= 1 mμ = 10 Å).—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

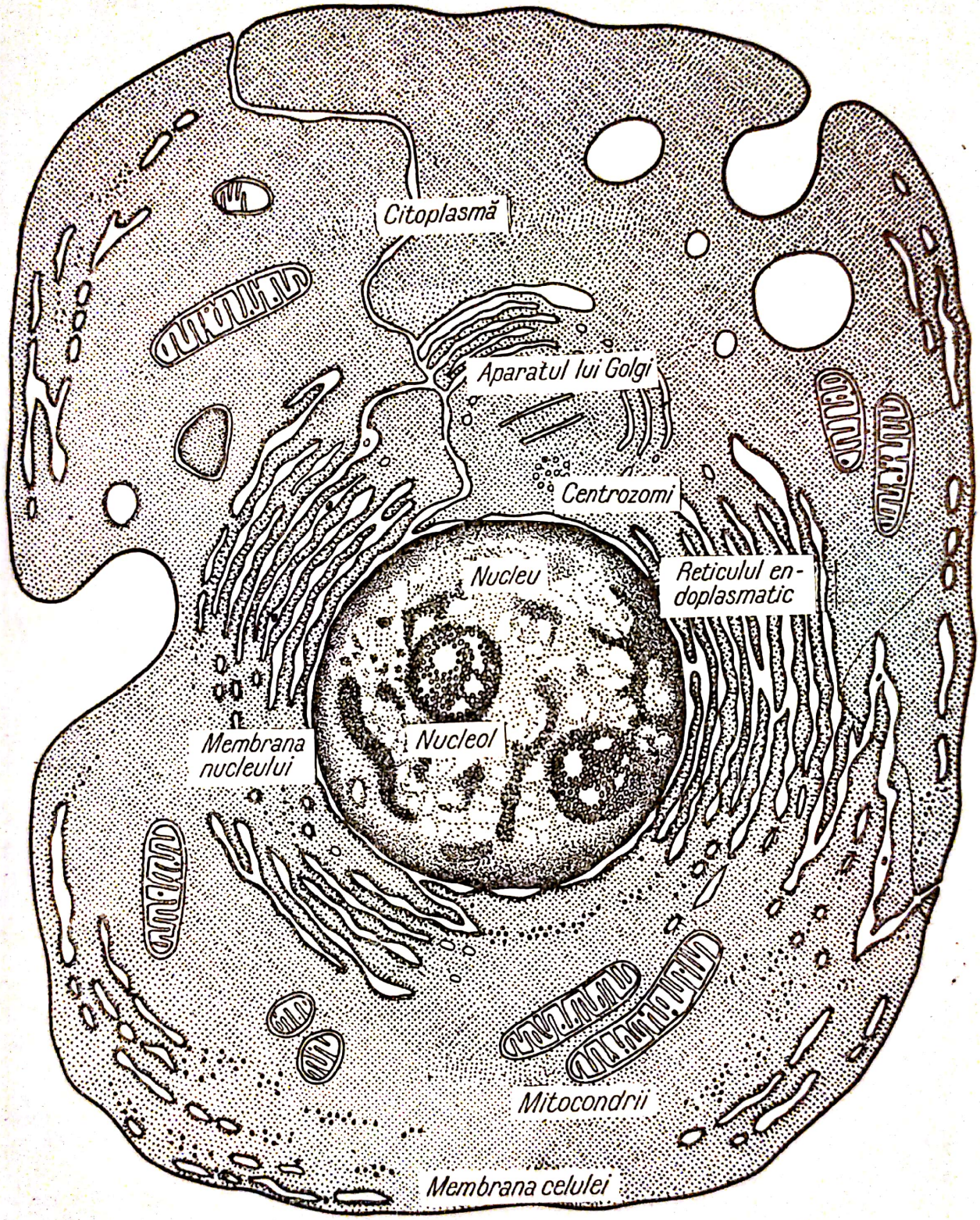


Fig. 2. Structura celulei după datele actuale; numeroasele detalii ale structurii au fost puse în evidenţă cu ajutorul microscopului electronic.

Scanned with OKEN Scanner

ea conține mitocondriile în care se desfășoară reacțiile de oxidare ce aprovizionează celula cu energie; reticulul endoplasmatic, un sistem de canalicule care străbate citoplasma pînă la nucleu; nucleul care conține cromosomii în ale căror structuri moleculare este înscrisă informația genetică; nucleolul, locul de acumulare a acizilor ribonucleici; centrosomul — organit care determină planul de diviziune al celulei și alte structuri. Punctele din citoplasmă figurate în schemă reprezintă granule de diferite dimensiuni printre care și ribosomii (sediul sintezei proteinelor) alcătuiți din proteină și acid ribonucleic. Imaginea ribosomilor fotografiați la microscopul electronic este prezentată în fig. 3. Acele formații particulare care au căpătat denumirea de mitocondrii conțin un întreg complex de enzime excepțional de importante pentru desfășurarea proceselor metabolice din celulă.

Înțelegerea în amănunt a strînsei asocieri structurale a părților celulei, a legăturii dintre toate componentele sale principale și a coordonării proceselor metabolice care se desfășoară în celulă a evoluat în ultimul timp datorită cercetărilor efectuate cu ajutorul microscopului electronic. Prin aceste cercetări s-a descoperit existența unui număr infinit de canalicule, invizibile în trecut, care străbat și unifică întreaga celulă. Pereții (membranele) acestor canalicule sînt formați din straturi de macromolecule proteinice și lipoizi. Acest sistem de canalicule prin intermediul căruia toate elementele celulare sînt legate între ele a căpătat denumirea de reticul endoplasmatic (fig. 2). Un organit deosebit de complex al celulei este nucleul care, în stare de repaus, este limitat de o membrană dublă. Nucleul se află și el inclus în acest sistem care ar putea fi privit ca un fel de „sistem circulator intracelular". În membrana nucleului există orificii care asigură comunicarea dintre conținutul nucleului și citoplasmă.

O particularitate foarte importantă a proceselor vitale din celulă este autoregenerarea structurilor care o alcătuiesc. Autoregenerarea structurilor celulare se produce în condiții care permit menținerea succesivă a unei anumite organizări a moleculelor în toate componentele structurale ale nucleului și citoplasmei.

Examinînd citoplasma, constatăm că lezarea ei nu produce celulei un prejudiciu ireparabil; părțile sale distruse pot fi reconstituite pe seama restului de masă vie a protoplastului. În aceasta rezidă uriașa stabilitate a celulei în relațiile ei cu mediul exterior. Se știe cum este rezolvată în construcțiile navale problema insubmersibilității navelor. Avînd compartimente care nu comunică între ele, nava nu se scufundă dacă unul sau chiar cîteva din aceste compartimente sînt avariate. În ce privește celula, ea este în stare nu numai să supraviețuiască lipsei temporare a unor părți izolate din citoplasmă, ci și să reconstituie pe calea autoreglării aceste părți pentru a-și continua viața.

Evenimentul cel mai important din viața celulei este înmulțirea ei, cînd o celulă-mamă dă naștere la două celule-fiice.

În timpul diviziunii celula este „strangulată" în două. Protoplasma, reprezentată funcțional și structural prin diferite unități micro- și submicroscopice, conține un număr foarte mare de componente. Cînd două celule-fiice primesc aproximativ jumătate din întreaga masă protoplasmatică a celulei-mamă, aceasta este cu totul suficient pentru a le asigura viața și pentru a stabili apoi, prin autoreglare, corelația necesară și poziția reciprocă a organitelor celulare. Corpul celulei noi este străbătut de un sistem de canalicule ale reticulului endoplasmatic, care leagă toate părțile citoplasmei cu noul nucleu. Celula se dovedește astfel a fi completă.

Scanned with OKEN Scanner

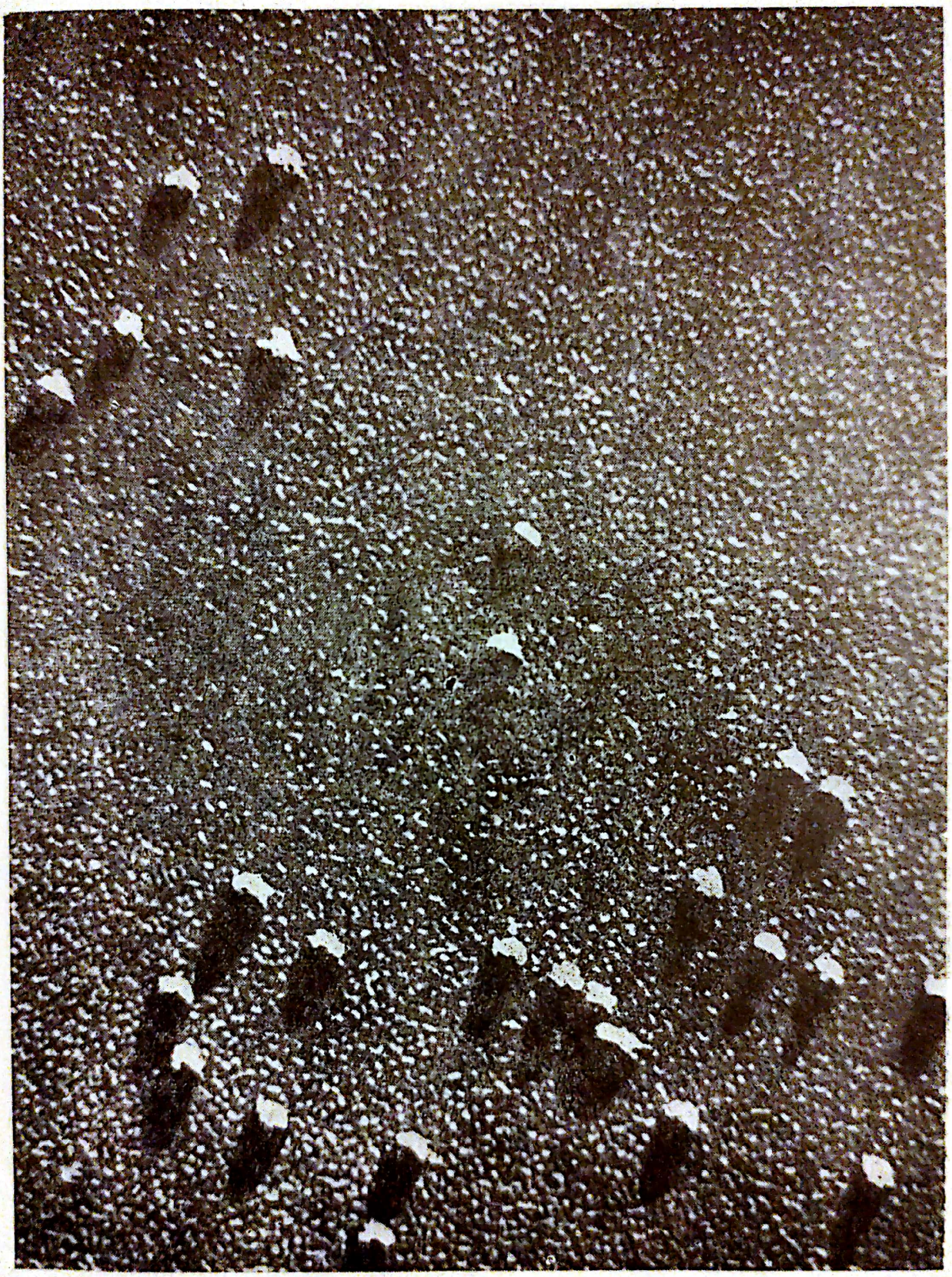


Fig. 3. Ribosomi mult măriţi. Microscop electronic (× 300 000).
În fig. 2 aceste structuri sînt reprezentate sub formă de puncte. Ribosomii conţin 50% proteină şi 50% acid ribonucleic.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 4. Microfotografie a cromosomilor de *Tradescantia* într-un grăunte de polen.

Aflat în interiorul celulei, nucleul are o structură particulară. El conține formațiuni macromoleculare relativ mari, cărora li s-a dat denumirea de cromosomi, datorită faptului că ei se colorează intens cu coloranți bazici, adică sînt corpi cu afinitate tinctorială (în limba greacă *chroma* înseamnă culoare, iar *soma* — corp).

Numărul de cromosomi, forma lor și organizarea internă a fiecăruia din ei sînt strict determinate pentru fiecare specie. La om, numărul lor este de 46, la secară — 14, la grîu — 42 etc. (fig. 4—7).

După cum s-a constatat în experiențele cu atomi marcați, și în cromosomi are loc un proces continuu de înlocuire a moleculelor și de autoregenerare a substanței. Cromosomii sînt astfel atrași în procesele metabolismului celular.

Totuși, sistemul cromosomic din celulă este înzestrat cu proprietăți cu totul deosebite, ceea ce se constată chiar din analiza rolului jucat de nucleu în celulă. Mitocondriile pot fi distruse, se poate amputa o bună parte din citoplasmă, dar celula continuă să trăiască și, prin autoreglare, revine la o existență normală. Dacă însă, prin termocauterizare sau prin radiații vom omorî nucleul în celulă sau îl vom extrage pur și simplu din ea cu micromanipulatorul, celula va pieri. Mai mult decît atît, pierderea unui cromosom sau a unei părți dintr-un cromosom duce adeseori la moartea celulei; în numeroase cazuri, distrugerea în interiorul unui cromosom, fie și numai a unor structuri moleculare izolate, atrage după sine pieirea celulei.

Vom reveni ulterior la problema principiilor care diferențiază organizarea intracromosomică de organizarea citoplasmei. Componentele moleculare ale cromosomilor au un caracter unic; ele nu se reconstituie pe calea autoreglării celulare obișnuite. Luînd parte la procesele metabolice, aceste structuri există și se dezvoltă în generațiile celulare în condițiile celei mai stricte continuități.

De aceea, formele de înmulțire a nucleului în cazul diviziunii celulei diferă mult de simpla „strangulare" a citoplasmei.

Structurile moleculare ale nucleului, sau mai bine zis ale cromosomilor, pot ajunge integral și cu toate particularitățile lor de organizare internă în celula-fiică numai atunci cînd alături de structura cromosomică a celulei-mamă ia naștere o structură cromosomică identică în celulele-fiice. Acest proces a căpătat denumirea de autoreproducere a cromosomilor. Procesul de autoreproducere este posibil numai pe baza sintezei citoplasmatice a „cărămizilor", adică a acelor părți ale viitoarelor molecule gigante care intră în compoziția cromosomilor.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste cărămizi sînt atrase către cromosomul parental, unindu-se într-o structură unică. Se formează astfel cromosomii celulelor-fiice care îi repetă pe cei parentali inițiali.

Acest proces nu se desfășoară totuși în afara influenței exercitate de celulă în ansamblu și de mediul extern. Chiar în timpul procesului de autoreproducere sau în prealabil, compoziția chimică a cromosomului se poate schimba. Noile trăsături caracteristice care apar în organizarea și în funcțiile cromosomilor determină modificarea și dezvoltarea lor.

Există dovezi indiscutabile că nucleul (sau mai precis cromosomii) constituie principalul element structural al celulei, de care este legată ereditatea. Un vast material în favoarea acestei teze, cu care vom face cunoștință mai jos, a fost obținut și în cadrul experiențelor de radiogenetică. Pătrunzînd în nucleu, radiațiile electromagnetice sau radiațiile corpusculare (electronice, neutronice) modifică, la nivelul molecular, structura cromosomilor și a diferitelor porțiuni ale acestora. Aceste modificări sînt urmate

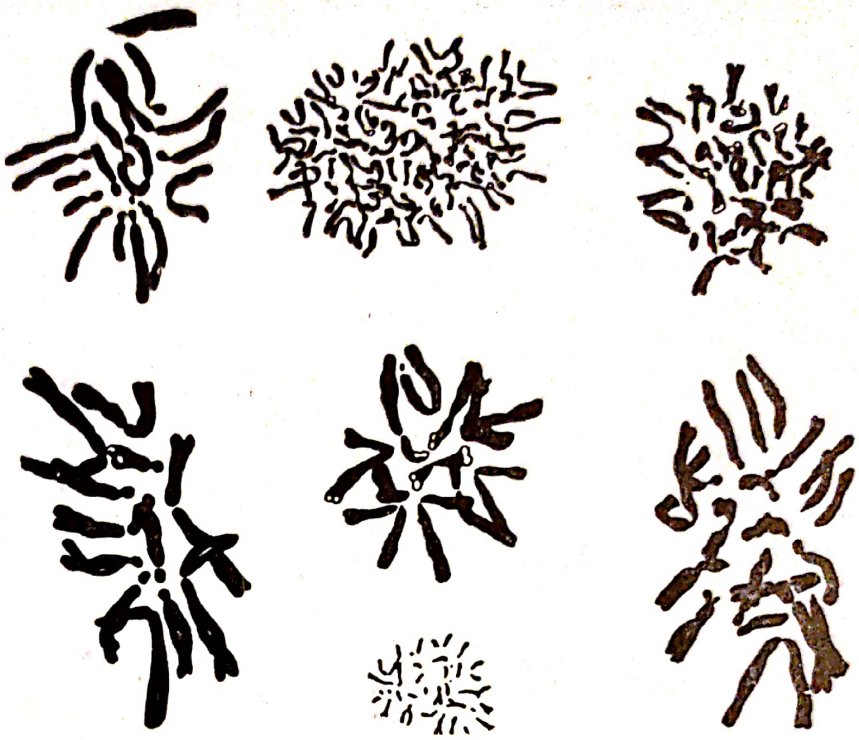


Fig. 5. Garniturile cromosomice a șapte specii de plante din genul *Tradescantia*.

Fig. 6. Microfotografia cromosomilor maimuței *Maccacus rhesus*; numărul cromosomilor este de 42.

Scanned with OKEN Scanner

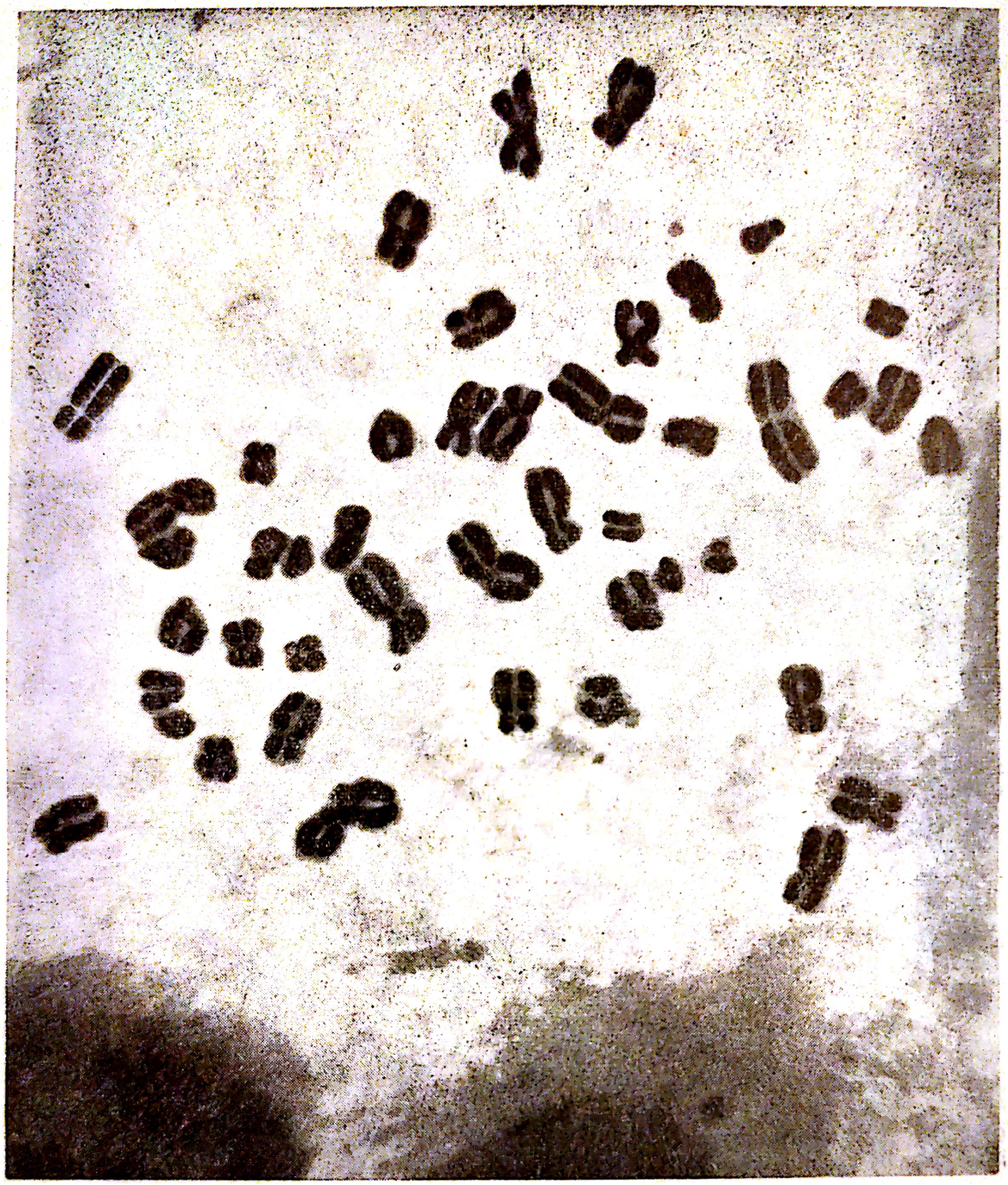


Fig. 7. Microfotografia cromosomilor omului la care nucleul celulelor conține 46 de cromosomi.

de diferite abateri în dezvoltarea și în particularitățile ereditare ale organismelor. Abaterile au un caracter specific care depinde de cromosomul sau sectorul molecular al cromosomului dat care a suferit modificarea.

Cromosomii conțin structuri moleculare în care sînt înregistrate informațiile ereditare specifice și individuale. De aceea este limpede că evoluția vieții a dus la apariția unei diviziuni celulare în care cele două celule-fiice capătă nuclee-

Scanned with OKEN Scanner

identice, care reproduc exact din punct de vedere structural proprietăţile nucleului celulei parentale originare. Numai printr-o asemenea diviziune nucleele ambelor celule, provenite din aceeaşi celulă de origine, pot dobîndi întreaga informaţie ereditară caracteristică organismului respectiv. Evoluţia celulei a avut ca urmare apariţia unui mecanism de diviziune a nucleului, care are un caracter universal, propriu într-o formă sau alta tuturor celulelor animalelor şi plantelor. Acest mecanism a primit denumirea de mitoză; el corespunde perfect cerinţelor de repartizare exactă a materialului genetic dublat. În mitoză, primul stadiu de diviziune a nucleului este profaza (fig. 8 *b*). În stadiul de interfază, în perioada în care celulele nu se divid, cromosomii nu pot fi evidenţiaţi în nucleu în condiţiile obişnuite de examinare la microscopul optic (fig. 6 *a*). În stadiul de profază, cromosomii sînt lesne vizibili la microscop. Totodată se constată că fiecare cromosom este dedublat, posedînd două cromatide încolăcite una în jurul celeilalte (fig. 8 *b*, *c*).

Aceasta arată că autoreproducerea cromosomilor are loc înainte de începerea diviziunii mitotice a nucleului: ea se realizează încă în interfază*. Într-adevăr, după cum s-a constatat prin măsurarea gradului de absorbţie a luminii ultraviolete (fotometrie) şi prin folosirea izotopilor radioactivi, cantitatea de acid dezoxiribunocleic (ADN) se dublează la sfîrşitul interfazei. În cursul tuturor stadiilor profazei (fig. 8 *b*, *d*) cantitatea de ADN rămîne nemodificată. Pe măsură ce se desfăşoară profaza, cromatidele se spiralează şi se îngroaşă, formînd spire din ce în ce mai răsucite. La sfîrşitul profazei (fig. 8 *d*) se vede clar că cele două cromatide ale fiecărui cromosom sînt legate între ele într-un anumit punct. Acest punct nu este de loc întîmplător. El constituie o porţiune foarte importantă a cromosomului care serveşte la mişcarea orientată a cromosomilor în timpul diviziunii nucleului. Această porţiune a fost denumită centromer.

Stadiul următor al mitozei este reprezentat prin metafază**, adică prin faza centrală mijlocie. În acest timp, membrana nucleară se lizează iar în celulă apare „fusul" de diviziune sub formă de fire ce se adună către cei doi poli ai celulei (fig. 8 *e*). Cromosomii, la început răspîndiţi în nucleu, formează aşa-numita placă ecuatorială. Centromerii, care de asemenea s-au dedublat mai întîi în interiorul centrosomului, se separă: unul din ei este orientat de fus spre un pol, iar celălalt — spre celălalt pol al celulei. Începe deplasarea cromatidelor: din fiecare pereche de cromatide care constituie cromosomii, una se îndreaptă spre un pol al celulei, iar cealaltă — spre celălalt pol. Astfel începe faza de separare a celor două nuclee-fiice, care a căpătat denumirea de anafază (fig. 8 *f*). Cantitatea de ADN din fiecare nucleu-fiu nou format este jumătate în comparaţie cu aceea din stadiile de profază şi de metafază şi normală pentru majoritatea nucleelor în repaus (interfazici) ai speciei date. După aceea, intervine stadiul de telofază, adică stadiul final de diviziune a nucleului (fig. 8 *g*). Se formează membrana nucleară, nucleul mitotic începe să se transforme în nucleu de interfază (fig. 8 *h*,*i*). Cromatidele, devenite acum cromosomi, se despiralează, îşi pierd capacitatea de a se colora şi se ascund în interiorul nucleului, dincolo de membrana lui.

---

* În interfază — perioada dintre două mitoze (sau diviziuni celulare cariochinetice) — cromosomii nu pot fi puşi în evidenţă (cu unele excepţii). În momentul în care apar (în profază) ei sînt deja dublaţi: cele două cromatide legate printr-un centromer reprezintă viitorii cromosomi ai celulelor-fiice.—*N.R.*

** Profază = fază premergătoare; metafază = faza următoare profazei; anafază = faza de vîrf; telofază = faza finală.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

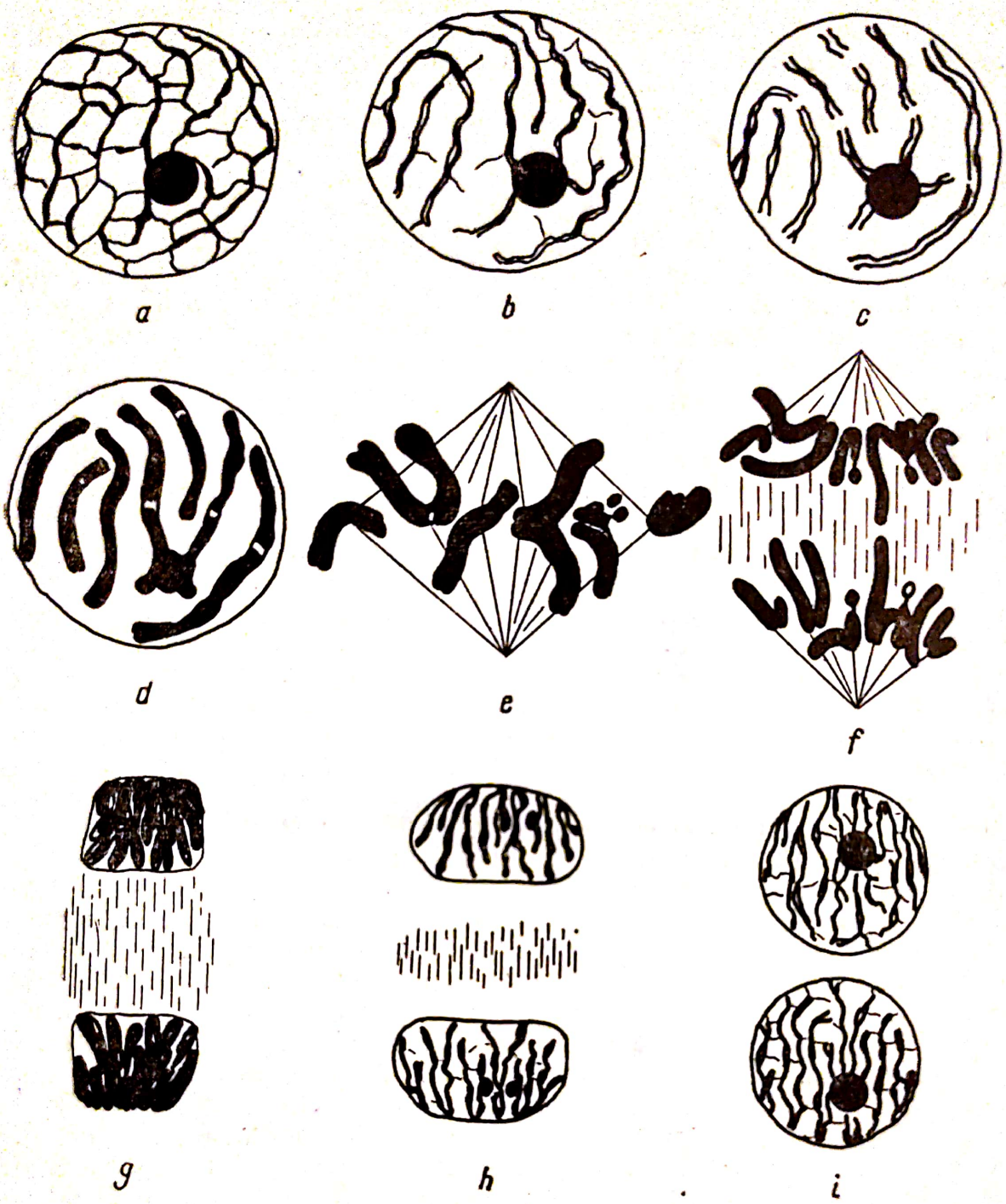


Fig. 8. Nucleul în diferite faze ale ciclului celular:

a — nucleul interfazic într-o celulă „în stare de repaus". Cromatina sub formă de rețea; *b* — stadiul de profază timpurie; sînt vizibili cromosomi lungi, subțiri, scindați, doi dintre ei sînt legați de nucleol; *c* — stadiul de profază mijlocie: cromosomii încep să se scurteze datorită procesului de spiralare, apar clar centromerii (sectoarele albe de pe cromosomi), care leagă cromatidele; *d* — profază tîrzie: cromosomii sînt și mai scurți, condensați; *e* — stadiul de metafază: cromosomii scurtați se dispun în placă ecuatorială, se formează fusul de diviziune, centromerii se asociază cu filamentele fusului; *f* — stadiul de anafază: cromatidele care au devenit cromosomi separați datorită scindării centromerului încep să se deplaseze spre poli; *g* — stadiul de telofază: cromosomii s-au adunat la cei doi poli ai celulei; *h* — stadiul de telofază tîrzie: cromosomii încep să capete caracterele specifice stării de interfază, se formează din nou membrana nucleului; *i* — formarea a două celule-fiice cu nuclee interfazice.

Scanned with OKEN Scanner

În fig. 9 este prezentată microfotografia unui țesut de triton și de ceapă în curs de diviziune. De la început ne atrage atenția uimitoarea asemănare a structurii nucleare și a procesului de mitoză la viețuitoare atît de diferite cum sînt tritonul (animal) și ceapa (plantă). Pe figură se văd celule în diferite stadii de diviziune celulară și numeroase celule în stare de interfază. Acest stadiu din viața celulelor este cel mai lung, chiar și în țesutul aflat în diviziune. La ceapă, stadiul de mitoză propriu-zisă durează trei ore, iar stadiul de interfază — circa 21 de ore. În ce privește țesuturile deja diferențiate, celulele lor nu se divid iar stadiul de interfază este nespus de îndelungat.

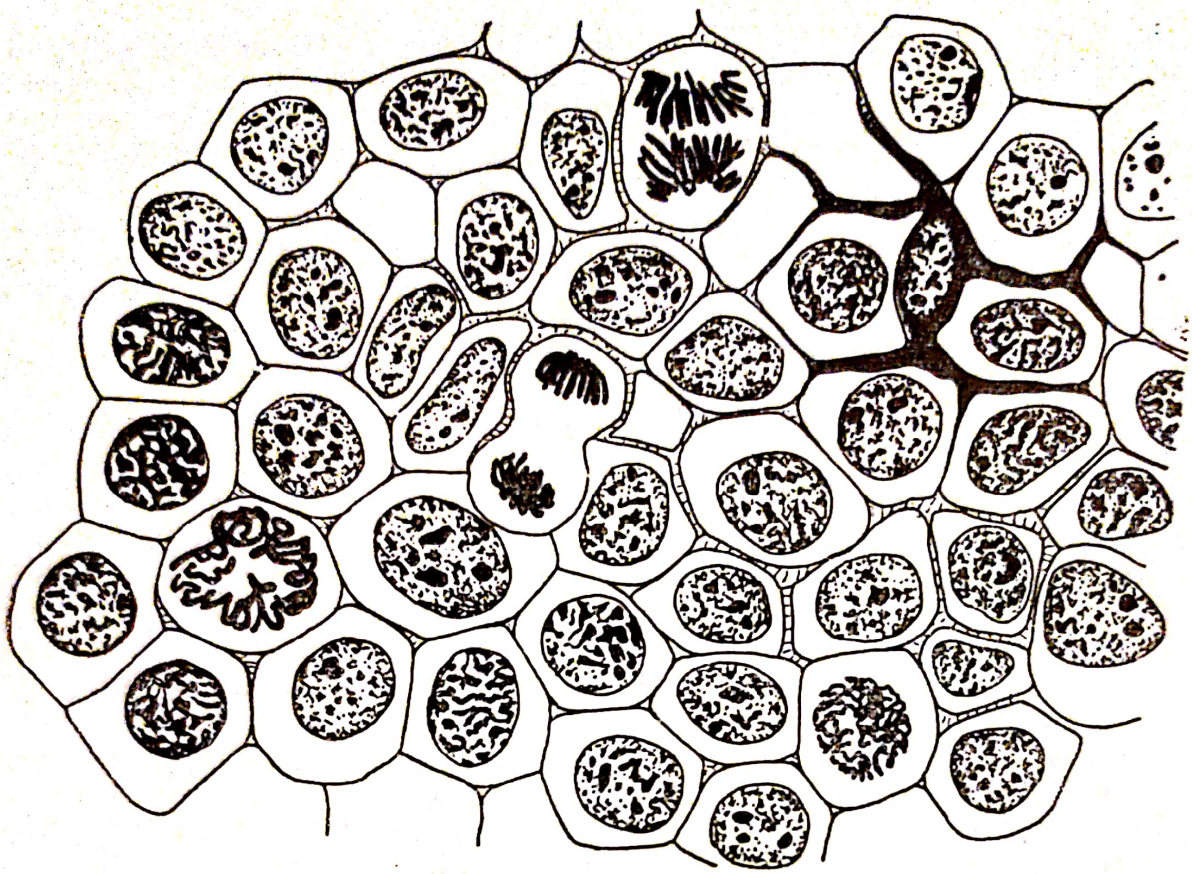
S-a dovedit de mult că este greșită concepția după care nucleul din stadiul de interfază ar fi inert din punct de vedere fiziologic și nu ar influența viața celulei. Dimpotrivă, atît în timpul mitozei, cît și în celelalte perioade de viață ale celulei, întreaga sa activitate biologică este legată de particularitățile structurilor nucleare. Se cunosc azi verigile fundamentale ale sintezei proteinelor. S-a dovedit că reglatorul compoziției calitative a proteinelor și al aspectului cantitativ al sintezei este nucleul. El organizează anumite substanțe intermediare care, trecînd în citoplasmă, se unesc cu unele dintre granulele acesteia. În aceste granule — ribosomi — are loc sinteza proteinelor dirijată de substanțele „trimise" în ele de nucleu. Mai mult decît atît, acești „mesageri" ai nucleului se formează în el în mod strict localizat. Apariția lor este legată de anumite structuri moleculare din cromosomi. Fiecare cromosom este diferențiat pe toată lungimea sa și conține sute de regiuni specifice, deosebite între ele. Fiecare regiune își trimite mesagerii specifici în citoplasmă. Acești mesageri determină specificitatea fiecărui ferment (catalizator) protidic. Ca urmare a miilor de reacții chimice, întreaga specificitate a metabolismului celular se află sub controlul cromosomilor. Desigur, în citoplasmă au loc numeroase reacții, proprii numai ei, dar specificitatea originară, cheie a caracteristicilor calitative ale principalelor reacții legate de sinteza proteinelor specifice, este determinată de nucleu, de cromosomi..

Toate acestea dovedesc că metabolismul se realizează după principiile unui sistem dirijat, în care informația nucleului este legată de toate structurile și substanțele nucleare. Toate aceste procese se desfășoară concomitent cu realizarea continuă în celulă a unei legături inverse prin care se transmite nucleului informația provenită din citoplasmă și din mediul exterior.

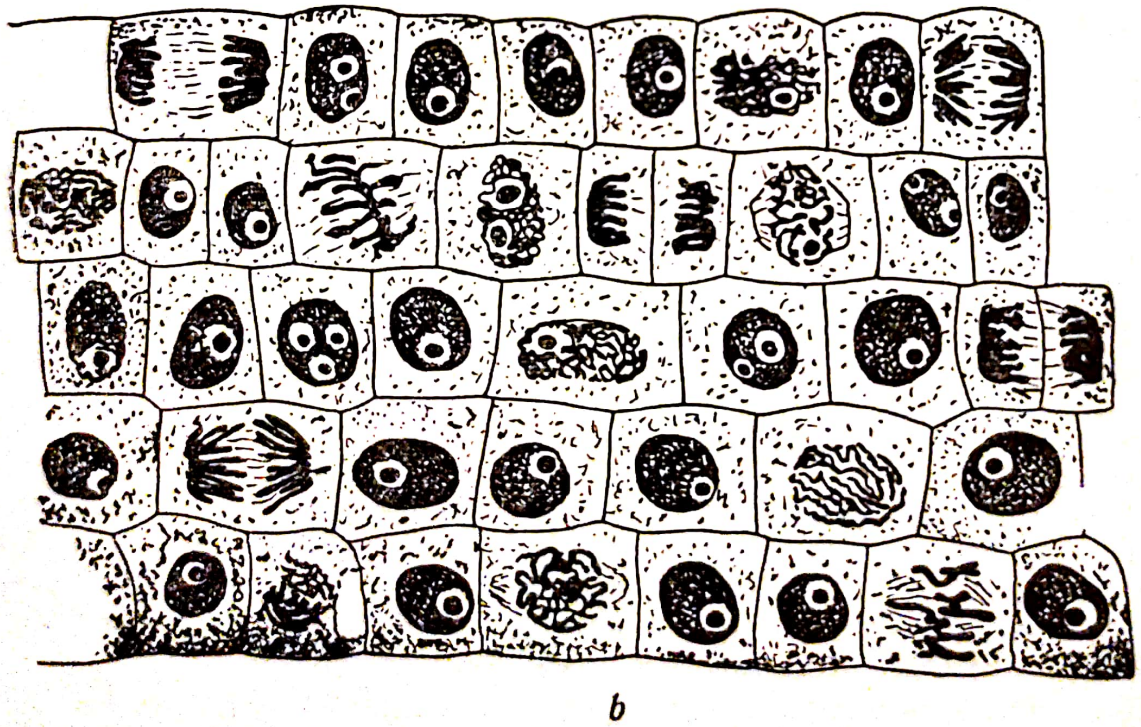
Celula este diferențiată sub raport structural și funcțional și constituie în același timp un tot unic. Istoria vieții pe pămînt a dus la apariția acestei organizări unice. Celula nu poate lua naștere din simplul amestec al substanțelor chimice din care este alcătuită. Procesele și organizarea celulei, istoricește condiționate, sînt prea complexe. De aceea, este imposibil să se creeze o celulă dintr-un amestec de substanțe componente, fără a se ține seamă de istoria și de organizarea ei. Ar fi ca și cum am lua o uzină chimică modernă, cu instalațiile ei pentru producția automată, am turna într-o groapă toate chimicalele, am sfărîma toată partea ei materială, am arunca cioburile în aceeași groapă și am începe să amestecăm totul cu un malaxor gigantic în speranța că uzina sfărîmată se va putea reconstitui în toată perfecțiunea ei anterioară.

A dirija activitatea biologică a celulei, a declanșa anumite procese biologice în eprubetă folosind diferite componente ale celulei, a pune problema creării artificiale a celor mai primitive forme de viață, a comenzii eredității organismelor existente reprezintă fie sarcini reale ale zilei de azi, fie sarcini care vor reveni științei noastre în viitorul cel mai apropiat. Această activitate trebuie

Scanned with OKEN Scanner



a



b

Fig. 9. Imaginea diviziunii celulelor într-un țesut de triton (*a*) și în bulbul de ceapă (*b*)
Se văd nucleele aflate în stadiul de interfază, de profază timpurie și tîrzie, de metafază, de anafază timpurie și tîrzie și de telofază.

Scanned with OKEN Scanner

să se întemeieze însă pe înțelegerea clară a faptului că viața diferă calitativ de natura anorganică și apare ca rezultat al interacțiunii dintre moleculele și atomii din care este compusă. Nu trebuie să fie omis factorul istoric în problema vieții, factor care a dus la apariția unei strînse unități structurale și chimice în organizarea celulei.

Faptul că celula este un tot integral, o unitate, nu înseamnă nicidecum că toate părțile ei au o însemnătate egală. Chiar din modul în care este reglată în celulă sinteza proteinelor, de pildă, vedem că ea constituie un sistem biocibernetic. Impulsurile care programează dirijarea dezvoltării celulei și a organismului prin crearea de particularități calitative ale metabolismului pornesc de la nucleu.

Nucleul însuși se modifică; el este antrenat în procesul metabolic fiind supus acțiunii legăturilor inverse și, ca atare, participă la fluxul vieții și dezvoltării celulei privite ca un tot unitar. Dacă vrem să găsim veriga principală în conducerea dezvoltării și eredității, trebuie să luăm în considerare structurile nucleului și procesele care se desfășoară în nucleu pe baza interacțiunii dintre citoplasmă și mediul extern.

Elaborarea metodelor chimice și fizice de modificare dirijată a organizării moleculare a cromosomilor va constitui baza obținerii modificărilor ereditare dirijate ale organismelor.

Dezvăluirea esenței metabolismului coordonat care se desfășoară pe baza unei organizări fizice, chimice și structurale determinate a nucleului și citoplasmei, sub influența puternică a substanțelor și a energiei primite de celulă din mediul extern, reprezintă calea ce duce la rezolvarea enigmei vieții.

Ce știm despre proprietățile chimice și fizice și despre organizarea biologică a structurilor nucleului și citoplasmei? Care este substratul molecular al impulsurilor care pornesc de la nucleu și programează particularitățile calitative ale metabolismului și dezvoltării celulei?

În ce constă esența interacțiunii dintre energie, cromosomi și citoplasmă în cazul pătrunderii în celulă a unor radiații ionizante ca radiațiile gamma, Roentgen, radiațiile neutronice, alfa sau alte radiații corpusculare?

Care sînt mijloacele a căror elaborare ne va îngădui să cunoaștem metodele de transformare dirijată a structurii moleculare a cromosomilor, menite să comande obținerea organismelor modificate ereditar care ne sînt necesare?

Știința are de rezolvat toate aceste probleme. Ea le rezolvă grație eforturilor comune ale geneticii, citologiei, fizicii, chimiei, ciberneticii. Un număr uriaș de savanți, cu un talent uimitor, energici, perseverenți și inspirați, se apropie pas cu pas de înlăturarea misterului care învăluie esența vieții, deschizînd drumul care duce la găsirea metodelor de modificare dirijată a proprietăților ereditare ale animalelor, plantelor, microorganismelor și virusurilor, la descoperirea de noi moduri de folosire a energiei atomice, în vederea realizării zborurilor cosmice îndepărtate ale omului și organismelor care-l vor însoți.

BIBLIOGRAFIE

1. E. W. Wilson, *The cell in development and heredity*, Third ed. New-York, The MacMilan Co, 1925
2. J. Brachet, *Biochemical cytology*. Acad. Press Inc., New York, 1957.
3. *The cell. Biochemistry, physiology and morphology*, Ed. J. Brachet a. A.E. Mirsky, v. I.816, 1959.

Scanned with OKEN Scanner

4. C. P. Swanson, *The cell*. Prentice-Hall, Inc. 1960.
5. T. Casperson, *Cell growt and cell function*, Norton, New-York, 1950.
6. D. Mazia, D. M. Prescott, *Nuclear function and mitosis*, în „Science", 120, 3108, 120—122, 1954.
7. A. E. Mirskii, *Nucleul celulei*, în culegerea „Al V-lea Congres internațional de Biochimie, Simpozion", 2, Biochimia funcțională a structurilor celulare, Ed. Academiei de Științe a U.R.S.S., Moscova, 1961, p.87.
8. D. E. Green, *Structura și funcția particulelor subcelulare*, Lecția plenară, op. cit. p. 3.
9. J. Dusset, *Unele probleme ale structurii și biochimiei celulei vegetale*, op. cit.,p.12.
10. E. D. P. De Robertis, W. W. Nowitzki, A. Saez, Francisco, *General cytology*, W.B. Saunders comp. Philadelphia, London, 1960.
11. *The living cell*, în „Scientific american", v. 205, no. 3, sept. 1961.
12. C. P. Swanson, *Cytology and Cytogenetics*, 1963.

2. Acizii nucleici și proteinele în structurile ereditare

Pentru a cunoaște compoziția chimică a cromosomilor au fost necesare mari eforturi și mult spirit inventiv. Cromosomii au fost studiați prin diferite metode de colorare, tratați cu enzime, examinați la microscopul cu radiații ultraviolete și la microscopul electronic, au fost izolați din celule și studiați prin analize chimice directe. Toate aceste cercetări au dus la același rezultat, și anume că aceste formațiuni conțin trei componente principale: proteină*, acid dezoxiribonucleic (ADN) și acid ribonucleic (ARN). Aceste trei substanțe au o importanță excepțională pentru viața celulei. În cromosom ele sînt incluse într-o singură structură supramoleculară comună, denumită nucleoproteid.

Fiecare din acești trei compuși constituie un polimer** complex. Polimerii sînt macromolecule alcătuite din molecule mai simple, care ar putea fi socotite drept cărămizi ce se integrează în structura complexă a unei macromolecule.

Proteinele nu conțin decît 20 de molecule primare, mai simple, sub formă de aminoacizi diferiți. Deosebirea de structură a diverselor molecule de proteină se datorește în primul rînd numărului de aminoacizi care intră în componența lor. Astfel, numărul de molecule de aminoacizi din diferitele macromolecule de proteină variază de la o sută pînă la zeci de mii. În al doilea rînd, aceste deosebiri sînt legate de structura aminoacizilor iar în al treilea rînd, de poziția reciprocă a diferiților aminoacizi în interiorul moleculei de proteină. În afară de acestea, proprietățile proteinei depind și de configurația spațială a moleculei sale.

Structura primară a moleculei proteinice (polipeptidul) reprezintă un lanț lung format din aminoacizi; ea este determinată de secvența aminoacizilor într-un asemenea lanț polipeptidic ***. Figura 10 reprezintă molecula unei pro-

---

* Proteinele simple sau holoproteinele sînt macromolecule formate din aminoacizi. Proteinele conjugate, heteroproteinele sau proteidele sînt macromolecule de proteină combinate cu un grup prostetic (= grup alăturat). Grupul prostetic poate fi acid nucleic (ARN sau ADN) în nucleoproteide, macromolecule glucidice în glicoproteide, lipide în lipoproteide etc.

** Polimer înseamnă bucăți multe, adică molecule mari formate din unirea (polimerizarea) unui mare număr de molecule mici (micromolecule). Unitatea polimerizată poartă numele de monomer. Macromolecula de proteină este un polimer în care monomerii polimerizați sînt aminoacizi. — *N. R.*

*** În macromoleculă, aminoacizii sînt uniți prin legături peptidice, de unde și denumirea de polipeptid sinonimă cu macromolecula de proteină. —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

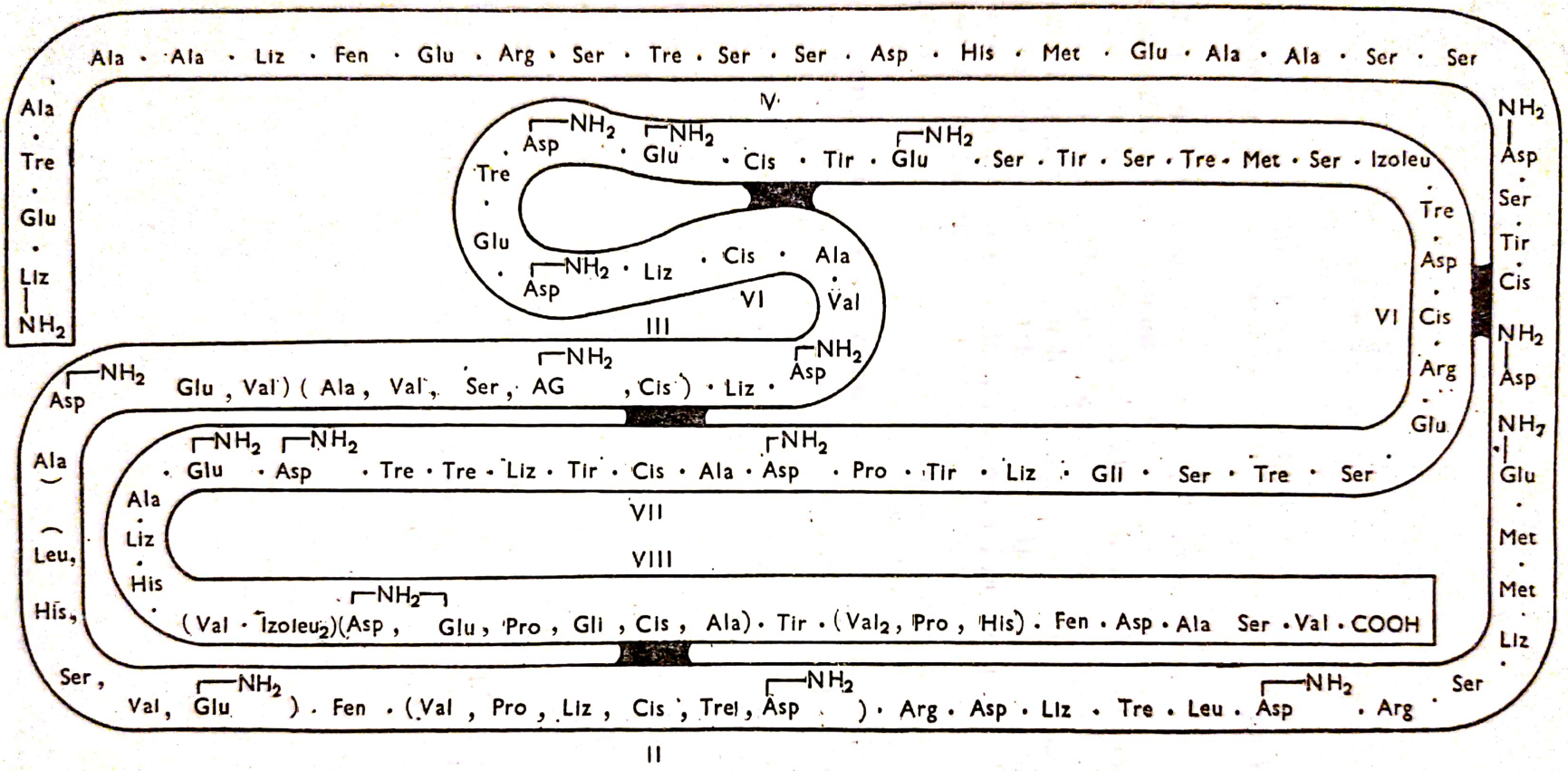


Fig. 10. Structura moleculei unei proteine-ferment (ribonucleaza) compusă din 124 de aminoacizi.
Cu negru sînt reprezentate legăturile disulfurice care asigură formarea structurii spiralate a enzimei.

Scanned with OKEN Scanner

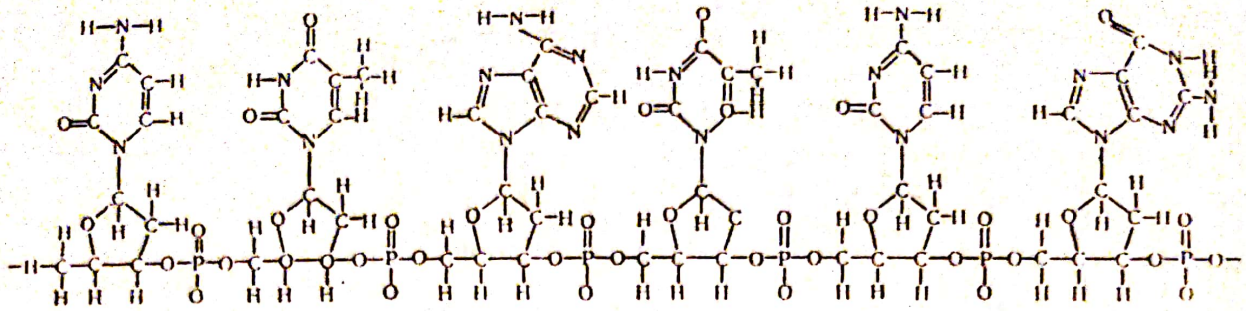


Fig. 11. Schema structurii chimice a unui lanț polinucleotidic de ADN:
Jos — scheletul moleculei format din resturi de zahăr și de acid fosforic; sus — bazele azotate.

teine-ferment denumită ribonuclează din cauza capacității sale de a hidroliza acidul ribonucleic, de a-l scinda în părțile lui componente. Molecula de ribonuclează este compusă din 124 de aminoacizi. Activitatea enzimatică a moleculei depinde de forma ei. În stare naturală (nativă), molecula acestei enzime are o structură spiralată. Caracterul acestei spiralări depinde de ordinea în care se succed aminoacizii în moleculă. Astfel, în cazul dat, ordinea de succesiune sau secvența aminoacizilor în interiorul moleculei proteinice determină forma spațială a moleculei-enzime. Acest fapt este foarte important pentru înțelegerea nivelului molecular la care se exercită influența nucleului asupra citoplasmei, fapt care va reieși mai clar din cele ce urmează.

Sub aspectul diversității monomerilor, polinucleotidul este un polimer * mult mai puțin complex decît proteinele. Nucleotidele ADN-ului conțin baze azotate, molecule de zahăr și de acid fosforic (fig. 11). Deosebirile dintre aceste molecule țin de prezența în ele a unor baze azotate diferite. Pe cînd diversitatea moleculelor proteinice este determinată de faptul că la alcătuirea lor participă un număr de 20 de aminoacizi diferiți, deosebirea dintre nucleotidele ADN-ului ține de prezența a numai patru baze azotate diferite. Două dintre acestea (adenina și guanina) sînt baze purinice, iar celelalte două (citozina și timina) sînt baze pirimidinice. Dimensiunile polinucleotidelor din ADN sînt destul de mari; unele conțin pînă la 30 000 de molecule de baze azotate. S-a dovedit că moleculele de ADN prezintă o structură dublă (fig. 12), în care polinucleotidele sînt legate între ele cîte două prin punți de hidrogen **.

Atît proteinele cît și ADN-ul sînt polimeri a căror posibilitate de a alcătui molecule diferite prin combinații variate între cărămizile constituente (aminoacizi și baze) este cu adevărat nelimitată.

---

* Acizii nucleici (ADN și ARN) sînt polimeri formați din nucleotide; nucleotidul este monomerul polimerizat. Un nucleotid este format dintr-o moleculă de acid fosforic, o moleculă de zahăr cu 5 atomi de carbon și o bază azotată heterociclică. În acidul dezoxiribonucleic (ADN) zahărul care intră în compoziția nucleotidelor este dezoxiriboza, iar în acidul ribonucleic (ARN) — riboza. Acidul dezoxiribonucleic este format prin polimerizarea a patru timpuri de nucleotide (dezoxiribonucleotide), denumite după baza azotată: acidul dezoxiadenilic, acidul dezoxiguanilic, acidul dezoxicitidilic și acidul dezoxitimidilic, corespunzători bazelor azotate adenina, guanina, citozina și timina. În acidul ribonucleic cele patru tipuri de nucleotide (ribonucleotide) polimerizate sînt: acidul adenilic, acidul guanilic, acidul citidilic și acidul uridilic, corespunzători bazelor azotate adenina, guanina, citozina și uracilul (timina este metiluracil).

** Punțile de hidrogen sau legăturile de hidrogen sînt legături slabe care se stabilesc prin atomi de hidrogen între atomii de oxigen și atomii de azot ai bazelor azotate care stau față în față în dubla spirală coaxială a ADN-ului. Astfel se formează legăturile adenină — timină și guanină — citozină reprezentate în fig. 36.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

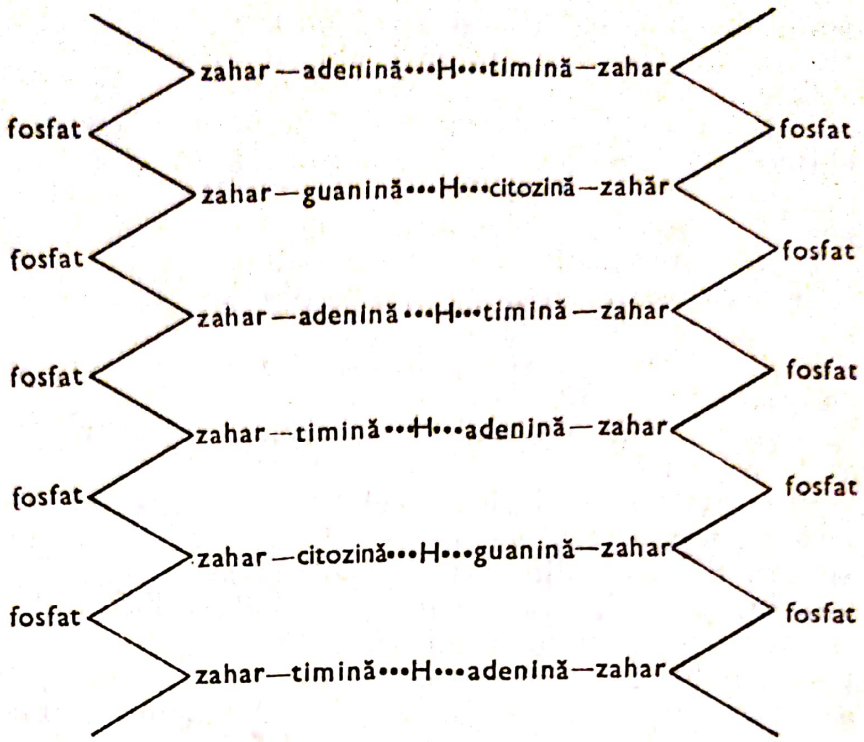


Fig. 12. Schema structurii chimice a moleculei de ADN alcătuite din două lanţuri polinucleotidice; bazele sînt unite prin legături de hidrogen (H).

ADN-ul este deci un polimer mai complex decît proteinele. Diversitatea moleculelor de ADN se explică prin poziţiile variate pe care le pot avea unele faţă de altele cele patru baze azotate diferite. Totodată, chiar dacă lanţul polinucleotidic al moleculei de ADN este compus numai dintr-o sută de baze azotate, numărul combinaţiilor posibile, în funcţie de secvenţa bazelor, adică numărul de izomeri atinge cifra fantastică de 4^{100}. Acest număr posibil de molecule diferite de ADN care pot lua naştere numai datorită secvenţei deosebite a bazelor în moleculele formate dintr-o sută de nucleotide este mai mare decît numărul de atomi din întregul sistem solar.

Tocmai datorită acestei capacităţi de a forma un număr nelimitat de molecule diferite datorită cărămizilor primare (aminoacizi sau nucleotide) care intră în compoziţia lor, proteinele şi acizii nucleici au căpătat denumirea de polimeri cu variaţie nelimitată.

Formarea polimerilor* are însemnătate excepţională pentru viaţa celulei. Fără polimeri celula nu ar putea forma structurile fundamentale ale nucleului, citoplasmei şi membranelor. Se cunosc polimeri organici de diferite grade de complexitate. Astfel sînt polimerii formaţi prin repetarea aceleiaşi molecule simple (aceluiaşi monomer). Asemenea polimeri sînt celuloza, cauciucul etc. Polizaharidele sînt polimeri mai puţin complicaţi, la care posibilitatea de modificare a poziţiei moleculelor simple este limitată. În sfîrşit, cei mai complecşi

---

* Polimerii sînt de două feluri:

1) Macromoleculele formate prin polimerizarea unui singur monomer şi în care monomerii (micromoleculele polimerizate) îşi pierd complet individualitatea. De acest tip este cauciucul natural (monomerul polimerizat este izoprenul) sau artificial (cum ar fi cauciucul format prin polimerizarea butadienei). Depolimerizarea acestor polimeri este sau foarte grea sau imposibilă;

2) Polimerii în care monomerii polimerizaţi nu-şi pierd individualitatea şi pot fi uşor depolimerizaţi prin hidroliză. Din această categorie fac parte polizaharidele (unitatea polimerizată este α-glucoza în amidon şi glicogen, β-glucoza în celuloză etc), proteinele şi acizii nucleici.

Scanned with OKEN Scanner

polimeri sînt proteinele și acizii nucleici, în interiorul cărora monomeri diferiți se pot îmbina în cele mai felurite poziții.

Este surprinzătoare capacitatea celulei de a sintetiza polimeri complecși în condiții de temperatură scăzută și de presiune normală *. În industrie, pentru obținerea polimerilor se folosesc temperaturi ridicate și presiuni înalte precum și o serie de alte procedee complicate. Celula rezolvă problema sintezei polimerilor necesari datorită acțiunii unui întreg sistem de enzime specifice.

Descoperirea misterului sintezei polimerilor în celula vie va produce o revoluție în industria chimică a polimerilor care joacă un rol uriaș în producția diferitelor materiale sintetice.

Pe lîngă faptul că sînt polimeri cu variație nelimitată, ADN-ul și proteinele au o structură moleculară care se condiționează reciproc. Evoluția vieții a dus la o concordanță uimitoare în ce privește structura și relațiile lor reciproce în viața celulei.

În activitatea biologică a celulei au o mare importanță enzimele, care sînt macromolecule rezultate din combinarea unor proteine cu alte molecule mai simple. Enzimele din clasa lipoproteidelor, de pildă, sînt o combinație între o proteină și o substanță cu masă moleculară mică (lipoid). În clasele următoare de substanțe întîlnim asocierea unui polimer complex cu un polimer simplu. De exemplu, glucoproteidele sînt substanțe formate prin combinarea unui polimer complex (proteina) cu un polimer simplu (polizaharidul).

O combinație foarte importantă alcătuită din doi polimeri complecși o constituie nucleoproteidele. Cromosomii nucleari sînt compuși din nucleoproteide care conțin ADN și proteină. În acest caz, acidul nucleic, substanță cu grad înalt de polimerizare, este combinat cu proteina, care de asemenea este un polimer complex. Această combinație se bazează pe structura reciproc condiționată a celor doi polimeri complecși. Studiul roentgenoscopic a arătat că locul ocupat de un nucleotid în interiorul moleculei de ADN este de 3,4 Å**. Aceleași corelații spațiale au fost descoperite la o serie de proteine în care fiecare moleculă de aminoacid ocupă 3,4 Å din lungimea lanțului polipeptidic.

Condiționarea reciprocă a acestor două molecule gigante ce alcătuiesc substanțe cu grad înalt de polimerizare se manifestă în viața celulei în trei direcții principale. În primul rînd, cele două componente ale nucleoproteidelor ce reprezintă substanța cromosomilor din nucleele plantelor și animalelor participă în mod coordonat la procesul complex de diviziune nucleară, bazat pe autoreproducerea fiecăruia dintre cromosomi — fenomene de care ne vom ocupa mai jos.

În al doilea rînd, în procesul de autoreproducere, molecula complexă polinucleotidică de ADN se formează din „cărămizile" inițiale, așa-numitele nucleotide, care reprezintă o combinație între o moleculă de acid fosforic, una de zahăr și una de bază azotată. Aceste cărămizi se formează în citoplasmă sub acțiunea enzimelor, care la rîndul lor sînt macromolecule proteinice. În afară de aceasta, îndată ce cărămizile (nucleotidele) au dobîndit o anumită poziție specifică, ele se leagă formînd sub acțiunea unei enzime speciale (nucleaza) un lanț polinucleotidic unic. Și această enzimă este tot proteină.

---

* Proteinele sînt formate din aminoacizi diferiți dar uniți prin același mecanism: legătura peptidică. Acizii nucleici sînt formați prin polimerizarea de nucleotide diferite dar unite prin același tip de legături esterice: fiecare moleculă de acid fosforic este esterificată cu două molecule de riboză sau dezoxiriboză și fiecare moleculă de riboză sau de dezoxiriboză este esterificată cu două molecule de acid fosforic.

Și polipeptidele și polinucleotizii pot fi desfăcuți ușor în monomerii polimerizați. — *N.R.*

** 1 Ångström = 10^{-8} cm.

În al treilea rînd, formarea proteinelor specifice în citoplasmă se desfășoară cu participarea unui „mesager" trimis aici de nucleu. Asemenea „mesageri" sînt moleculele de acid ribonucleic (ARN) care se formează în nucleu, unde acidul dezoxiribonucleic din cromosomi le „stanțează", astfel ca proprietățile acidului ribonucleic trimis în citoplasmă să oglindească particularitățile sale.

Astfel, în viața celulei sinteza și influența acizilor nucleici și a proteinelor sînt legate reciproc. Fără proteine, ADN-ul și ARN-ul nu ar putea participa la viața și la reproducerea moleculelor în celulă, iar fără acizii nucleici ar fi imposibilă reproducerea și participarea la viața celulei a înseși moleculelor de proteină.

Moleculele celui de al doilea acid nucleic, ARN-ul reprezintă un fel de curea de transmisie care transportă informația din nucleu în citoplasmă. Aceste molecule care transmit informația din nucleu în citoplasmă dirijează sinteza proteinelor specifice.

Molecula de ARN este mai simplă decît molecula de ADN, fapt ce se datorește dimensiunilor mici și structurii sale reprezentate printr-un singur lanț de nucleotide. În compoziția moleculelor de ARN intră un număr de patru baze. În aceste molecule lipsește însă timina, înlocuită cu o altă bază numită uracil, astfel încît în molecula de ARN există două baze purinice — adenina și guanina — și două baze pirimidinice — citozina și uracilul. Cele mai mari molecule de ARN conțin 2 000—4 000 de nucleotide. În fig. 13 este prezentată comparativ structura moleculelor de ADN și ARN.

Nucleoproteidele, formate din proteine, ADN și, parțial, ARN, alcătuiesc cromosomii din nucleele tuturor plantelor, animalelor și a numeroase microorganisme. Aceasta dovedește că nucleoproteidele sînt compuși chimici extrem de răspîndiți pe pămînt, fiind proprii tuturor organismelor cu structură celulară.

Pe planeta noastră sînt răspîndite, de asemenea, și așa-numitele forme de viață acelulară — virusurile. Fiind forme de viață acelulare, virusurile nu-și pot manifesta proprietățile biologice în afara celulelor. Ele pătrund în celule și numai acolo devin capabile să trăiască și să se înmulțească. Virusurile sînt

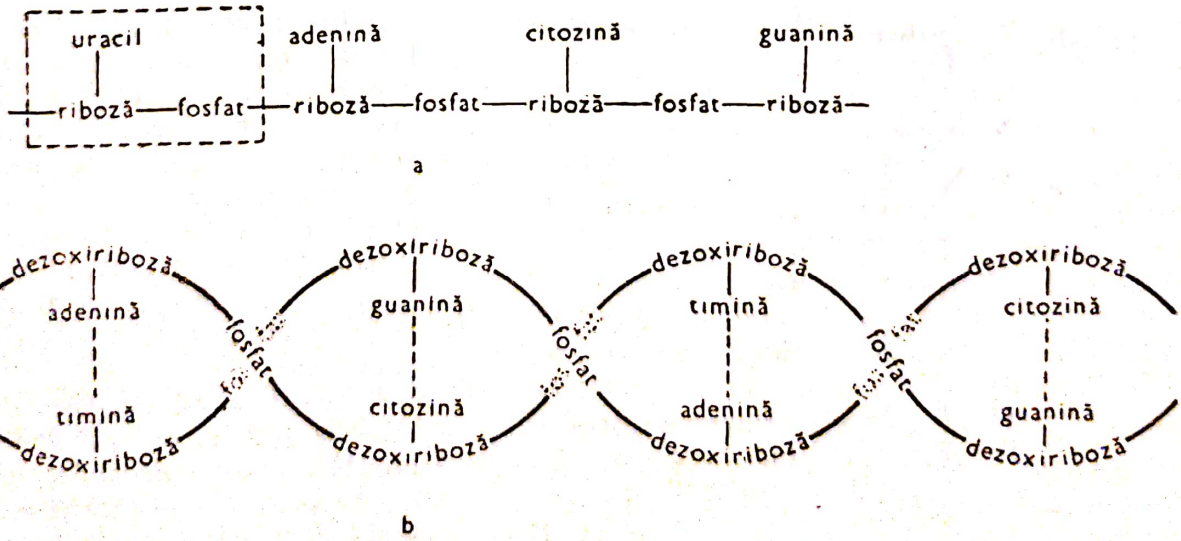


Fig. 13. Comparație între structura chimică a moleculelor de ARN (*a*) și de ADN (*b*).
Molecula de ARN are o structură monocatenară. În chenar se vede o unitate polimerizată în ARN (un nucleotid) formată din uracil, riboză și fosfat. Molecula de ADN este bicatenară; nucleotidul din ADN conține o moleculă de zahar, dezoxiriboza, o bază, timina, (în locul uracilului) și fosfat. Bazele azotate: adenina, citozina și guanina intră în compoziția ambilor acizi nucleici.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 14. Bacteriofagi fotografiaţi la microscopul electronic. Se vede capul bacteriofagului şi coada cu care se fixează pe bacterie. Capul bacteriofagului conţine filamentul de ADN.

specifice. Unele din ele pătrund în celulele animalelor şi de aceea au fost numite virusuri animale. Altele — virusurile vegetale, pătrund în celulele plantelor. A treia categorie — virusurile bacteriene, denumite şi bacteriofagi, pătrund în celulele bacteriilor. Virusurile au o organizare specială care corespunde capacităţii lor de a exista în stare latentă în afara celulei şi de a pătrunde în stare activă în celulă, înmulţindu-se în interiorul ei. În figurile 14 şi 15 este prezentată structura bacteriofagului, fotografiat cu microscopul electronic. Cea mai surprinzătoare s-a dovedit a fi descoperirea prin analiză chimică a substanţelor care intră în compoziţia virusului. S-a constatat că virusul este compus din acizi nucleici şi proteine. În majoritatea cazurilor în compoziţia sa intră molecule de ADN şi de proteine, iar uneori molecule de ARN şi de proteine.

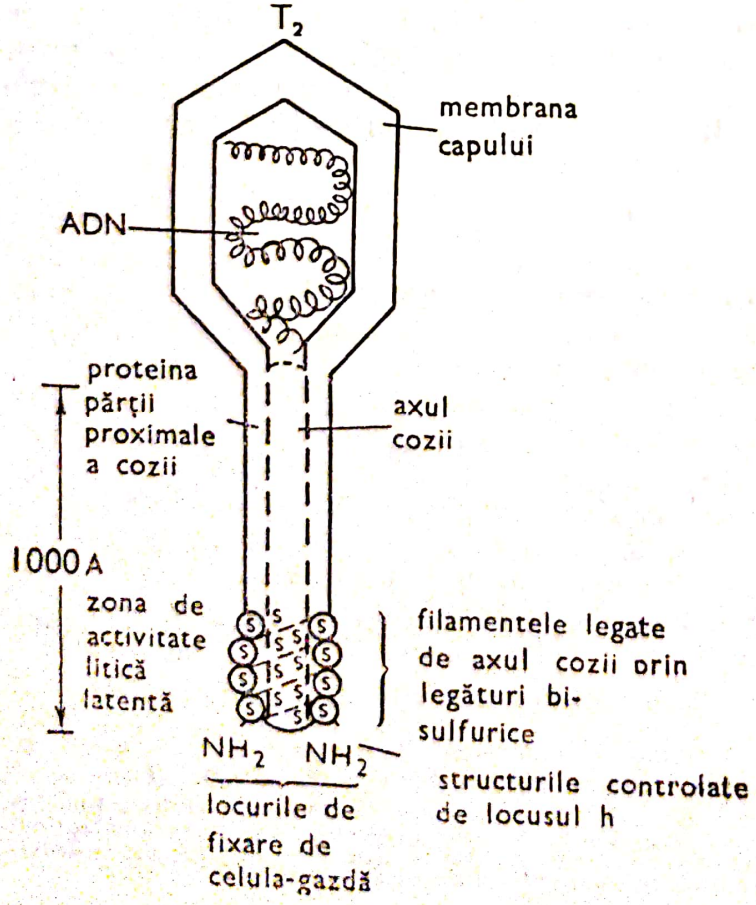


Fig. 15. Schema structurală a bacteriofagului T_2.

Studiul virusului care provoacă o boală a frunzelor de tutun (virusul mozaicului tutunului) a arătat că acesta are forma unui cilindru, a cărui membrană este compusă din molecule protidice. Interiorul acestui cilindru conţine spirale de acid ribonucleic (fig. 16, 17). O astfel de dispoziţie a acestor substanţe s-a dovedit a fi generală, proprie tuturor animalelor, plantelor şi virusurilor bacteriene.

În acest fel ni s-a dezvăluit tabloul uimitor al unităţii de organizare a structurilor ereditare pentru toate formele de viaţă de pe pământ. Chimismul

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 16. Virusul mozaicului tutunului fotografiat la microscopul electronic ; lungimea virusului — 3000 Å lăţimea, — 150 Å.

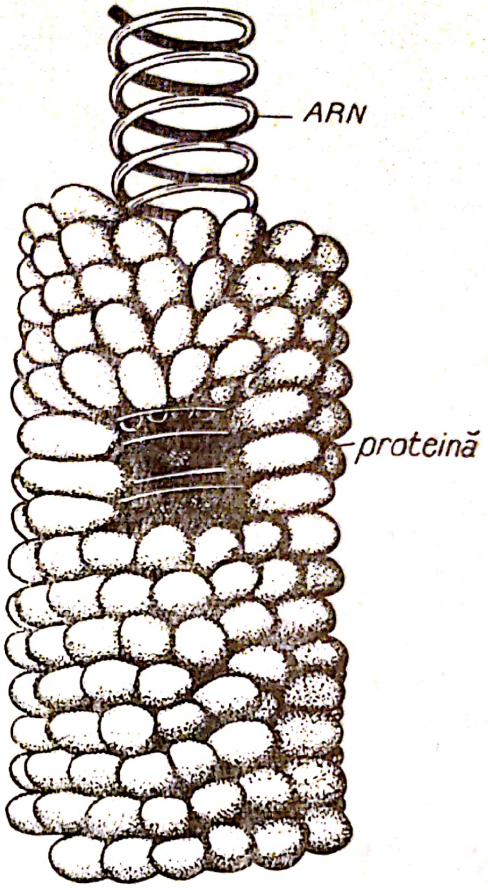


Fig. 17. Schema structurală a virusului mozaicului tutunului:

ereditǎţii, chimismul structurii care efectuează programarea în celulă şi informaţia genetică a virusurilor s-au dovedit a fi legate de moleculele de acizi nucleici. Totodată a devenit limpede că, de regulă, o componentă a organizării moleculare a structurilor ereditare este proteina. În cromosomi ea se prezintă sub formă de nucleoproteid, iar în particulele de virus proteina joacă rol de înveliş pentru acizii nucleici. Nu se ştie care este organizarea „cromosomilor“ bacteriilor.

Toate acestea arată că acizii nucleici reprezintă componentele fundamentale care alcătuiesc structurile ereditare ale organismelor. Rolul proteinei este predominant în toate procesele de manifestare a activităţii biologice ale celulei şi ale organismului. Acum a devenit limpede că tocmai analiza acţiunii individuale şi comune a acestor molecule uimitoare — proteinele, ADN-ul şi ARN-ul — reprezintă calea care duce la cunoaşterea esenţei eredităţii şi a enigmei vieţii. O întreagă serie de cercetări remarcabile, făcute în primul rînd asupra virusurilor şi bacteriilor, precum şi asupra proteinelor şi acizilor nucleici chimici puri, izolaţi din organisme, au ridicat cortina care ascundea de atîta vreme fenomenele intime ale chimismului vieţii. Enigma eredităţii a fost, în esenţă, rezolvată, întrucît cunoaştem acum natura moleculară şi atomică

Scanned with OKEN Scanner

a acelor substanţe uimitoare pe care, într-o formă principial unică dacă ne referim la caracterul chimic al moleculelor de ADN şi ARN, se bazează ereditatea omului, animalelor, plantelor şi virusurilor. Aci se manifestă într-o formă superioară unitatea vieţii pe pămînt, originea sa comună şi particularităţile evoluţiei ei în ansamblu. În această unitate sînt incluse posibilităţi nelimitate pentru evoluţia viitoare a vieţii. Cunoaşterea chimiei eredităţii pune bazele dirijării eredităţii, adică ale obţinerii mutaţiilor necesare prin transformarea structurii moleculare a substanţelor care intră în compoziţia nucleoproteidelor.

BIBLIOGRAFIE

1. J. Brachet *Biochemical cytology*, ch. IV, Acad. Press. inc.. New York, 1957.
2. J. Lederberg. In „Angew. Chem." *71*, 15—16, 473, 1959.
3. K. Belar. *Die cytologischen Grundlagen der Vererbung*, 1928.
4. V. A. Engelhart, *Necatorîe problemî sovremennoi biohimîi*, Moskva, Izg. vo AN. S.S.S.R., 1959.
5. Ch. B. Anfisen, *The molecular basis of evolution*, New York—London, 1959.

3. Organizarea moleculară a eredităţii la bacterii şi virusuri

Cromosomii din nucleele celulelor sînt formaţi din nucleoproteine, iar virusul conţine de asemenea acid nucleic într-un înveliş proteinic *. Se pune întrebarea: cum s-a dovedit că nu proteina ci moleculele de acizi nucleici poartă înscrise în ele rezultatele întregii evoluţii anterioare a organismului?

Această dificilă problemă a bazelor moleculare ale informaţiei genetice a fost rezolvată în primul rînd datorită cercetărilor asupra virusurilor, bacteriilor şi preparatelor pure de ADN şi ARN, izolate din bacterii.

Bacteriile sînt organisme microscopice unicelulare. Structura nucleelor lor nu a fost încă stabilită cu exactitate. De aceea nucleele celulelor bacteriene, spre deosebire de nucleele tipice din celulele animalelor, plantelor şi ale altor microorganisme, se numesc elemente nucleare sau nucleoizi. Nucleoizii din celulele bacteriilor conţin acid dezoxiribonucleic. În citoplasma celulelor bacteriene se află un mare număr de proteine diferite, ARN şi alte substanţe.

Bacteriile sînt atacate de virusurile bacteriene, de bacteriofagi. Odată pătruns în celulă, virusul se multiplică, iar după 20 de minute celula bacteriană se dizolvă, intervenind aşa-numita liză. Din celula astfel omorîtă sînt puşi în libertate sute de bacteriofagi capabili să pătrundă în alte bacterii.

---

* Cromosomii din nucleele celulelor organismelor superioare se deosebesc de „cromosomii" bacteriofagilor şi bacteriilor printr-o organizare mult mai complicată. Din acest punct de vedere, vieţuitoarele pot fi împărţite în eucariote (cu nucleu adevărat) şi procariote — cu structuri omologe nucleului. Bacteriile şi bacteriofagii sînt procariote.

Pentru unicul „cromosom" al procariotelor, neconţinut într-un nucleu, se obişnuieşte denumirea de genofor = purtător al informaţiei genetice.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

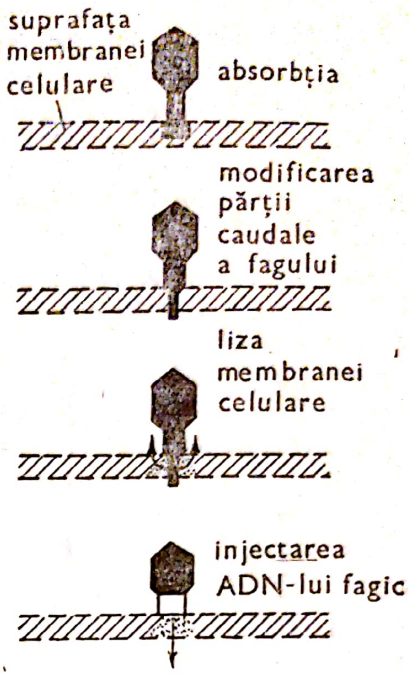


Fig. 18. Fixarea bacteriofagului pe membrana bacteriei și pătrunderea materialului genetic fagic (ADN) în celula bacteriană. Săgeata indică locul de injectare a ADN-ului fagic.

Virusurile bacteriilor sînt foarte mici, de aceea nu pot fi văzute decît la microscopul electronic. Ele se compun din ADN și proteină. Existența acestor virusuri depinde în întregime de bacterii, deoarece dezvoltarea și multiplicarea lor e posibilă numai în interiorul celulelor bacteriene. Lezarea celulei bacteriene de către virus începe din clipa în care bacteriofagul se fixează cu „coada" lui de peretele celular al bacteriei (fig. 18). La locul de fixare al fagului, membrana bacteriană se dizolvă, iar conținutul virusului este „injectat" în interiorul bacteriei. Acest fenomen, care a căpătat denumirea de fază de infecție, caracterizează momentul în care virusul pătrunde în celulă. Structura bacteriofagului este destul de complexă (fig. 15). Fiecare fag are un „cap", a cărui membrană este alcătuită din proteină iar conținutul este reprezentat de un filament molecular de ADN, și o „coadă" care are forma unui cilindru proteinic gol pe dinăuntru.

În bacterie nu pătrunde virusul în întregime, ci numai filamentul de ADN și o cantitate foarte mică de proteină. Proteina bacteriofagului rămîne în afara celulei bacteriene, ca un înveliș care și-a pierdut conținutul și stă atîrnat de peretele celulei. Pătrunzînd în interiorul celulei, filamentele de ADN fagic întîlnesc „mașina" biochimică străină a celulei bacteriene care conține ADN specific ei, sistemul de molecule ARN și proteine specifice. Astfel, în celula bacteriană pătrunde o informație genetică străină mai puternică și, ca urmare, compoziția chimică și sensul principalelor sinteze din celulele bacteriene se modifică radical sub acțiunea filamentului de ADN al bacteriofagului care a pătruns în ea. Într-o bacterie normală, informația genetică a ADN-ului propriu programează sinteza unor molecule specifice de ARN care, în ribosomi și în citoplasmă, dirijează sinteza proteinei bacteriene specifice. Pătrunderea ADN-ului bacteriofagului duce la distrugerea structurii programatice a celulei bacteriene. ADN-ul și ARN-ul bacteriei, precum și proteinele pier, descompunîndu-se în moleculele lor constitutive; rolul structurii de programare este preluat de un sistem nuclear străin pentru bacterie, sub forma ADN-ului bacteriofagic (fig. 19). Folosind sistemul citoplasmatic al bacteriei, ADN-ul bacteriofagic își formează propriii săi „mesageri", specifici (ARN), pe care îi trimite în complexul de procese chimice din celulă. Ia naștere un sistem nou de molecule de ARN și sub influența lor încep să se formeze în citoplasma bacteriei proteinele fagului. Aceste proteine străine creează în interiorul celulei bacteriene un nou sistem enzimatic care asigură înmulțirea ADN-ului fagului precum și a ARN-ului și a proteinelor care intră în compoziția membranei fagului. Începe o autoreproducere intensă a filamentelor de ADN fagic și se formează proteinele membranelor bacteriofagilor. Întregul chimism și metabolism al celulei bacteriene în care a pătruns ADN-ul bacteriofagic se subordonează controlului și structurii acestuia. În celula bacteriană se instalează un program genetic mai puternic din punct de vedere biochimic. Resursele celulei bacteriene sînt folosite în sinteza unui

Scanned with OKEN Scanner

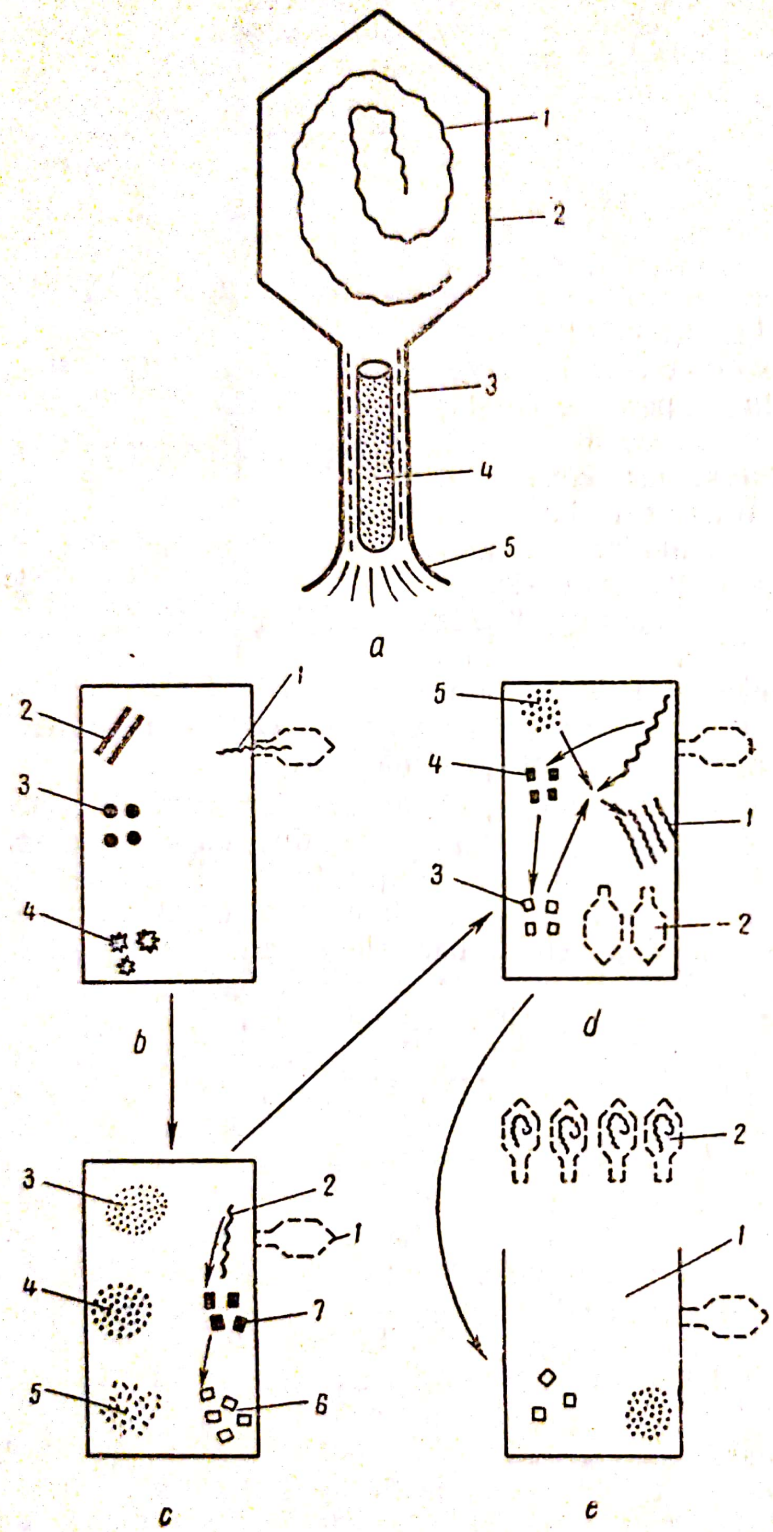


Fig. 19. Multiplicarea bacteriofagului în celula bacteriană;

a — bacteriofagul (*1* — ADN-ul fagic; *2* — înveliş proteic; *3* — învelişul cozii; *4* — canalul din centrul cozii; *5* — filamente caudale); *b* — faza de infecţie (*1* — ADN-ul bacteriofagic care pătrunde în celulă; *2* — ADN-ul celular; *3* — ARN-ul celular; — *4* proteine celulare); *c* — faza de creştere vegetativă I, (*1* — proteina bacteriofagului rămasă dincolo de membrana celulei bacteriene; *2* — ADN-ul bacteriofagic; *3* — ADN-ul celular care se dezorganizează; *4* — ARN-ul celular care se dezorganizează; *5* — proteine celulare care se lizează; *6* — proteinele bacteriofagului; *7* — ARN-ul nou format); *d* — faza de creştere vegetativă II, reproducerea virusului (*1* — ADN-ul nou al bacteriofagului; *2* — învelişul proteic nou al bacteriofagului; *3* — proteinele bacteriofagului cu rol de enzime şi de proteine ale capsidei; *4* — ARN-ul bacteriofagului; *5* — nucleotidele celulei); *e* — liza, pieirea celulei bacteriene; maturizarea şi ieşirea bacteriofagilor în mediu (*1* — liza celulei; *2* — noi bacteriofagi).

Scanned with OKEN Scanner

material străin pentru ea și distructiv—ADN-ul și proteina bacteriofagică. După 20 de minute de la pătrunderea ADN-ului bacteriofagic în interiorul bacteriei, resursele celulei bacteriene sînt epuizate și în ea se formează fagi maturi. Celula piere și se dizolvă prin liză, iar bacteriofagii ies în mediul extern gata să infecteze noi celule bacteriene.

Etapele infectării cu virus a celulei bacteriene au fost descoperite numai datorită utilizării microscopului electronic. În acest scop, a fost larg folosită și metoda atomilor marcați. În ADN-ul virusurilor a fost introdus fosfor radioactiv—P^{32}, iar în proteinele lor — sulf radioactiv—S^{35}. Aceste elemente radioactive au semnalizat dinăuntrul celulei bacteriene și din membrana ei, transmițînd informații despre soarta moleculelor de ADN și a proteinei bacteriofagului pătruns în celula bacteriană. Așadar, fosforul radioactiv a contribuit la înțelegerea mecanismului de replicare a moleculelor de ADN bacteriofagic în interiorul bacteriei.

Filmul pătrunderii virusului în bacterie dă un răspuns clar la întrebarea care anume substanță determină proprietățile ereditare ale virusului. Această substanță este ADN-ul. Pătrunzînd în celula bacteriană, moleculele de ADN determină apariția proteinelor specifice ale fagului. Aceste molecule modifică integral chimismul celulei bacteriene și sintezele care au loc în ea, ceea ce duce la apariția unor noi fagi maturi, compuși din molecule specifice de ADN și din proteine specifice. Moleculele de ADN fagic dispun de informația ereditară completă necesară pentru dezvoltarea și formarea bacteriofagilor de specia dată.

Rolul moleculelor de acizi nucleici ca bază materială a eredității a fost stabilit tot atît de clar și în experiențele efectuate cu unele virusuri fitopatogene compuse din molecule de ARN și din proteine. Se știe că o întreagă serie de virusuri ale plantelor și animalelor conțin molecule de ARN (în loc de ADN). Un exemplu de acest fel îl constituie virusul care provoacă îmbolnăvirea frunzelor de tutun (virusul mozaicului tutunului), iar dintre virusurile animale — virusul poliomielitei, agentul patogen al uneia din bolile grave ale omului.

Virusul mozaicului tutunului (fig. 16 și 17) are forma unui cilindru cu lungimea de 3 000 Å și grosimea de 150 Å. Învelișul său se compune din blocuri de molecule de proteină de 23 Å. Interiorul cilindrului este umplut de filamentul alcătuit din molecule de ARN. Printr-un anumit tratament chimic, virusul mozaicului tutunului a putut fi descompus în părțile sale componente: proteina și acidul nucleic.

Dacă în frunzele de tutun se introduc proteinele virusului, infecția nu se produce, deci proteinele virale nu exercită nici o influență asupra plantei. Un aspect diferit se observă dacă în frunzele tutunului se introduc acizii nucleici ai virusului. Frunzele plantelor prezintă o boală virotică tipică. În celulele unor astfel de plante, acidul nucleic viral creează un tip nou de metabolism. În aceste celule apare un sistem de noi proteine-enzime, care asigură formarea și înmulțirea virusului mozaicului tutunului. Și în acest caz, acidul nucleic viral dispune de informația ereditară necesară pentru dezvoltarea și înmulțirea lui.

În afară de aceasta, rolul acidului nucleic și al proteinelor virusului mozaicului tutunului au fost studiate în cadrul unor experiențe remarcabile prin care s-a creat așa-numitul virus „hibrid".

Am arătat mai înainte că după descompunerea chimică a virusului mozaicului tutunului în acid nucleic și proteină, acești doi componenți pot exista separat un timp oarecare. Dacă aceștia sînt introduși împreună într-o eprubetă, se produce resinteza, adică apariția virusului compus din proteină și acid nucleic.

Scanned with OKEN Scanner

Ţinîndu-se seama de acest fapt, s-a făcut încercarea de a obţine virus conţinînd proteina unei tulpini şi acidul nucleic al alteia. Această încercare a reuşit: amestecînd într-o eprubetă proteina şi acidul nucleic (ARN), izolate fiecare din tulpini diferite ale virusului mozaicului tutunului, s-au obţinut forme „hibride". Asemenea tipuri de virusuri sînt arătate în fig. 20. În stînga (fig. 20 *a*) este reprezentat un virus cu o virulenţă foarte slabă, iar în dreapta (fig. 20 *b*) — un virus cu o virulenţă puternică. În rîndul al doilea (fig. 20 II) este reprezentată descompunerea chimică a ambelor tulpini de virus în acid nucleic şi proteină. În rîndul al treilea (fig. 20 III) este figurată amestecarea în aceeaşi eprubetă a proteinei provenite de la tulpina slab virulentă cu acidul nucleic obţinut din tulpina intens virulentă. Într-un astfel de amestec se formează virusul „hibrid". El are proteina tulpinii slab virulente şi acidul nucleic al celei foarte virulente. După un anumit timp, virusul „hibrid" suferă modificări pe de-a-ntregul dirijate. Proteina lui se transformă din proteina tulpinii slab virulente în proteina proprie tulpinii intens virulente. Această transformare se produce sub influenţa acidului nucleic. Proprietăţile virusului nou corespund pe deplin particularităţilor acidului nucleic, primit de virus prin „hibridare" (fig. 20 IV).

Primele date asupra legăturii dintre ereditate şi acizii nucleici au fost obţinute în experienţele cu bacterii din grupul pneumococilor, care provoacă pneumonia. Această boală apare atunci cînd în organism pătrund tulpini virulente. Există şi forme nevirulente care se înmulţesc în organism, dar ele nu provoacă boala. Dacă celulele dintr-o tulpină virulentă sînt omorîte prin căldură, atunci introducerea lor în organism nu declanşează boala. S-a dovedit însă că moleculele care deţin informaţia ereditară (care imprimă caracterul de virulenţă al bacteriilor) se menţin ca atare chiar după omorîrea celulei prin căldură. Iepurele rămîne sănătos după administrarea de celule virulente omorîte numai datorită faptului că acestea nu mai sînt capabile să se înmulţească.

S-a constatat că dacă iepurelui i se administrează simultan atît celule vii dintr-o tulpină avirulentă, cît şi celule moarte într-o tulpină virulentă (omorîte prin căldură) animalul se îmbolnăveşte. De la aceste animale bolnave au fost izolaţi pneumococii. S-a observat că ei aparţineau tulpinii virulente. Ce s-a întîmplat? S-a dovedit că moleculele structurilor ereditare ale celulelor bacteriene omorîte prin căldură au transformat ereditatea celulelor vii într-un sens determinat (fig. 21). Avem în faţă tabloul, devenit azi clasic, al transformării bacteriene.

Încă în 1944, din celulele tulpinii virulente a fost izolată în stare chimic pură acea substanţă sub influenţa căreia se produce transformarea bacteriană, şi anume acidul dezoxiribonucleic.

În prezent se ştie că numeroase proprietăţi ale bacteriilor sînt susceptibile de transformare. Sub acţiunea moleculelor specifice de ADN, izolate din celulele unei anumite tulpini bacteriene, celulele unei alte tulpini pot suferi fenomenul de transformare atît în organismul viu în care au pătruns bacteriile, cît şi în eprubetă.

Printre pneumococi se cunosc tulpini foarte sensibile la acţiunea streptomicinei, care pier imediat după introducerea acestui antibiotic în mediul lor de cultură. Există însă şi tulpini de pneumococi rezistente la acţiunea streptomicinei. S-a demonstrat că dacă la o colonie de pneumococi în faza de creştere, compusă din celule sensibile la streptomicină, se adaugă ADN pur, extras din celulele unei tulpini rezistente, o parte din celulele tulpinii nerezistente suferă

Scanned with OKEN Scanner

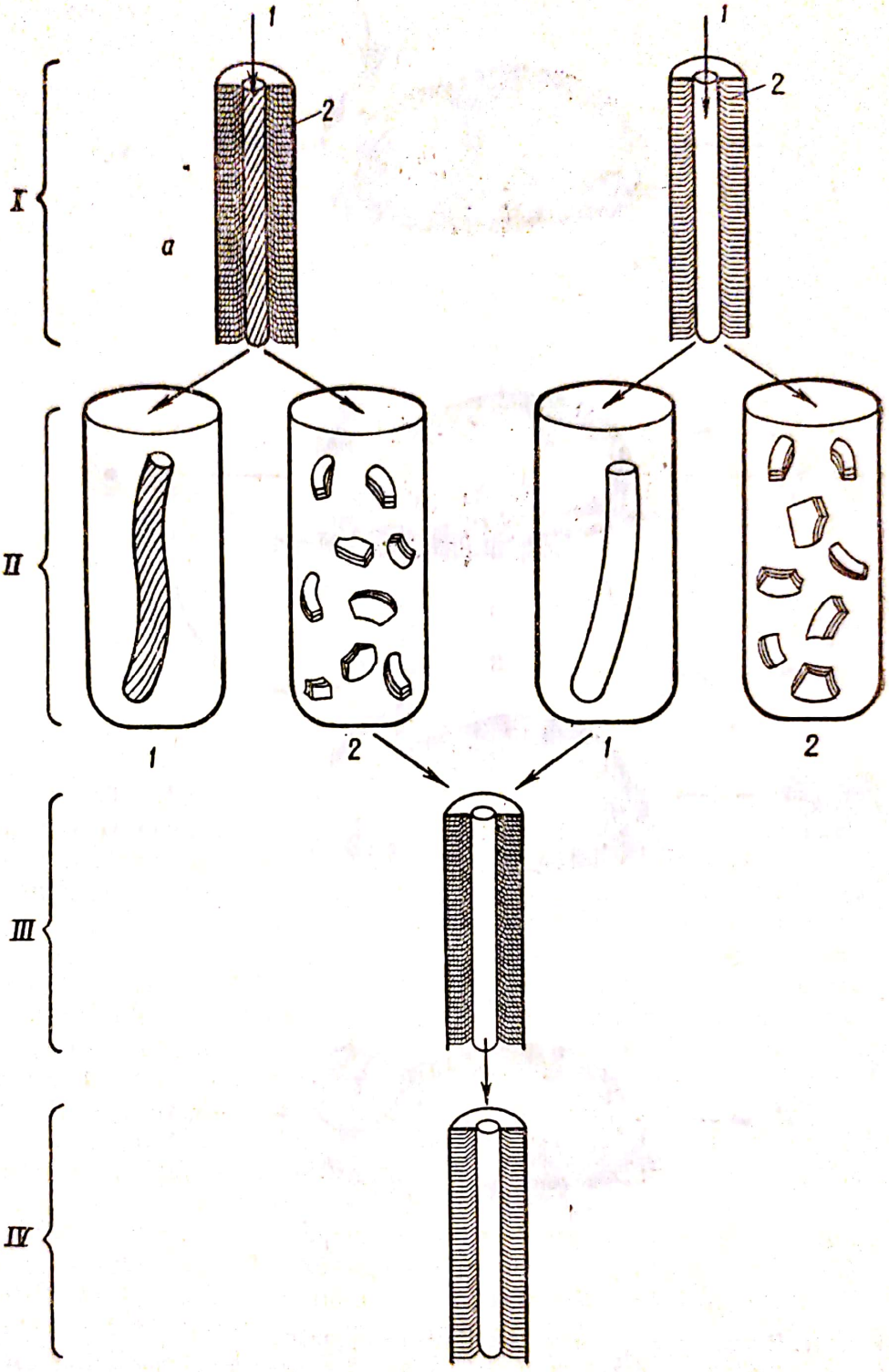


Fig. 20. Forme „hibride" ale virusului mozaicului tutunului:

I — Virusul slab virulent (*a*) și tulpina virulentă (*b*) (*1* — acid nucleic; *2* — proteină); II — descompunerea virusului în proteină și acid nucleic (*1* — acidul nucleic în eprubetă; *2* — proteina în eprubetă); III — rezistența virusului din acid nucleic și proteină de proveniență diferită; IV — transformarea proteinei sub acțiunea acidului nucleic; proprietățile virusului hibrid corespund întru totul acidului nucleic primit.

Scanned with OKEN Scanner

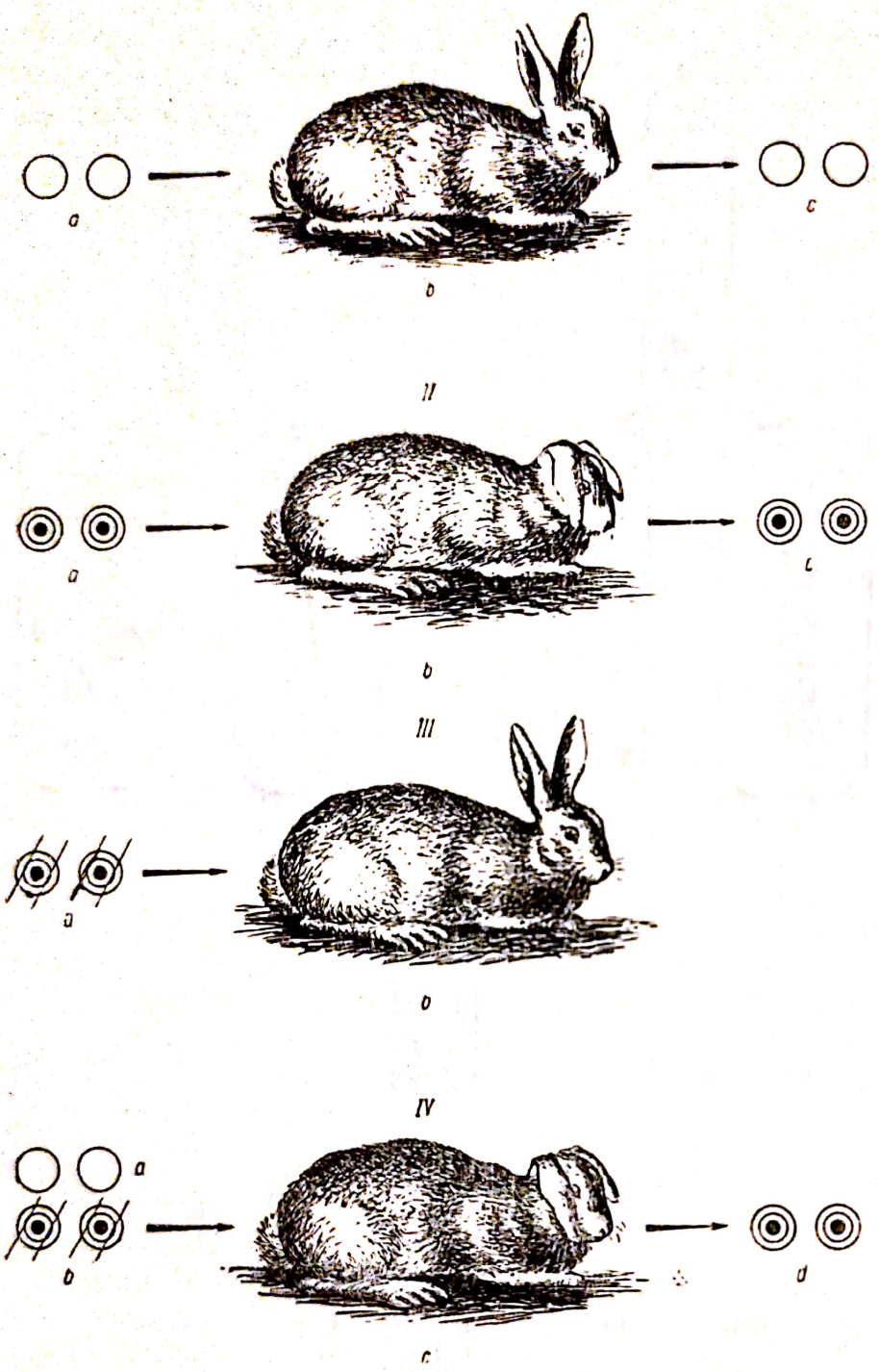


Fig. 21. Transformarea bacteriană într-un organism viu:

I — inocularea iepurelui cu pneumococi avirulenți (nepatogeni) (*a* — pneumococi avirulenți; *b* — iepurele care a rămas sănătos după inocularea pneumococilor; *c* — forma avirulentă de pneumococ izolată de la iepure); II — inocularea iepurelui cu pneumococi virulenți (patogeni) (*a* — forme virulente patogene de pneumococ; *b* — iepurele care s-a îmbolnăvit de pneumonie după injectarea pneumococilor; *c* — forme virulente de pneumococ, izolate de la iepurele bolnav); III — inocularea iepurelui cu celule virulente de pneumococ, omorîte prin căldură (*a* — celulele pneumococilor virulenți, omorîți prin căldură; *b* — iepurele sănătos după o astfel de inoculare: în organismul iepurelui nu există celule vii de pneumococ); IV — inocularea iepurelui cu un amestec de pneumococi avirulenți vii și celule de pneumococi virulenți omorîți prin căldură (*a* — celulele pneumococilor avirulenți; *b* — celulele pneumococilor virulenți omorîți prin căldură; *c* — iepurele care s-a îmbolnăvit de pneumonie după o asemenea inoculare; *d* — pneumococi virulenți izolați dintr-un iepure bolnav, care au suferit transformarea bacteriană).

Scanned with OKEN Scanner

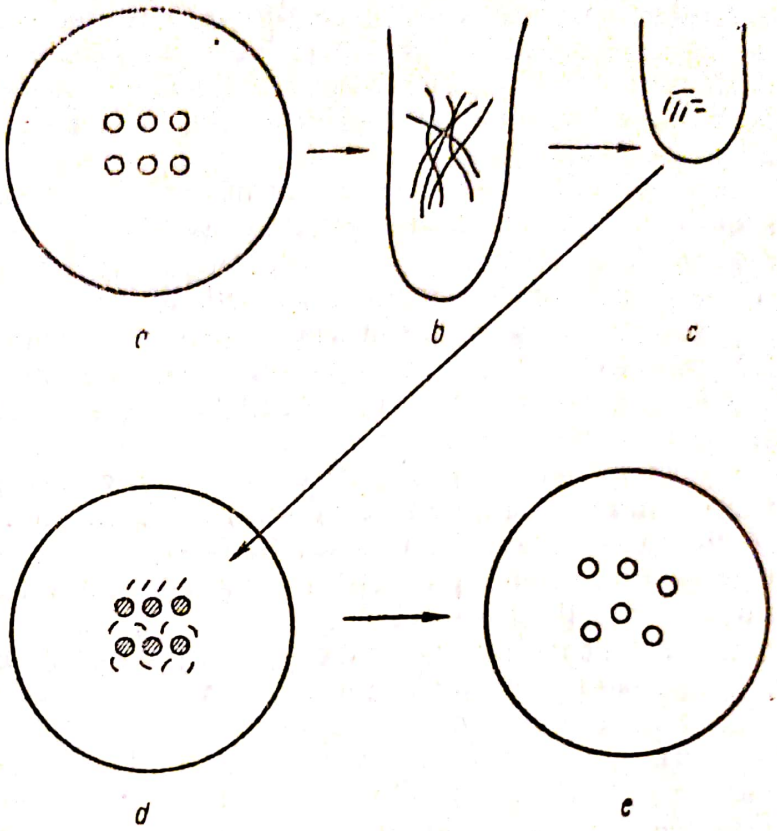


Fig. 22. Transformarea bacteriană *in vitro*, cu izolarea moleculelor de ADN din celule:

a — creşterea celulelor rezistente la streptomicină pe mediul cu agar în placă Petri; *b* — omogenizarea celulelor rezistente la streptomicină; *c* — ADN-ul purificat provenit din celulele rezistente la streptomicină; *d* — creşterea coloniilor sensibile la streptomicină într-un mediu care conţine ADN obţinut din celule rezistente la streptomicină; *e* — celulele transformate datorită ADN-ului introdus printre celulele rezistente la streptomicină.

transformarea bacteriană. Aceste celule transformate dobîndesc proprietatea de a fi rezistente la streptomicină, proprietate care se menţine la toate generaţiile ulterioare obţinute din celulele astfel transformate (fig. 22).

Pornind de la anumiţi precursori, bacteriile au capacitatea de a sintetiza numeroase molecule complexe. Printre acestea locul principal îl ocupă proteinele, fără de care viaţa ar fi imposibilă. Sinteza proteinelor începe cu sinteza părţilor lor componente — aminoacizii. Un aminoacid care intră în compoziţia aproape a tuturor proteinelor este triptofanul. De obicei, bacteriile sintetizează acest aminoacid din alte molecule, mai simple, şi de aceea ele cresc bine şi în mediile în care nu există triptofan. Astfel de tulpini bacteriene se numesc triptofan-independente. Există însă şi tulpini bacteriene cu ereditatea modificată (mutanţi), care şi-au pierdut capacitatea de a sintetiza triptofanul din molecule mai simple; ele pot creşte numai dacă triptofanul este adăugat în mediul lor de cultură. Asemenea tulpini se numesc triptofan-dependente.

Din celulele tulpinilor triptofan-independente se poate extrage şi purifica ADN-ul. Dacă acest ADN specific se adaugă unei culturi în plină creştere de bacterii dintr-o tulpină triptofan-dependentă, o parte din celulele existente în cultură se transformă şi dobîndesc capacitatea de a sintetiza triptofanul. Aceste celule şi descendenţii lor au proprietăţile tulpinii triptofan-independente.

În toate cazurile de transformare bacteriană rolul de substanţă care dirijează transformarea într-un anumit sens a proprietăţilor ereditare ale bacteriilor îl îndeplinesc moleculele de ADN. Pătrunzînd în celulele străine, aceste molecule de ADN le modifică ereditatea conform proprietăţilor informaţiei ereditare înscrise în ele. Încercările de a provoca transformarea bacteriană cu alţi compuşi chimici izolaţi din celula vie nu au dat nici un rezultat. Aceasta priveşte atît proteinele celulare, cît şi moleculele de ARN din celulă.

Scanned with OKEN Scanner

Așadar, la majoritatea covîrșitoare a celulelor vii, moleculele de ADN sînt substanța specifică de care este legată ereditatea. În structurile moleculare ale ADN-ului este înregistrată informația ereditară care poate programa nu numai activitatea biologică a propriei celule, ci și pe cea a unei celule străine, dacă aceste molecule pătrund în ea.

Care este natura acestei transformări dirijate a eredității celulare? Doar celula supusă transformării are și ea un sistem de molecule ereditare! Pe ce cale moleculele de ADN străine, aduse dinafară, intră în sistemul de structuri intracelulare și dobîndesc acolo caracterul de factor ereditar nou, și încă dominant?

Înainte de a răspunde la aceste întrebări trebuie să ne ocupăm de încă două fenomene extrem de interesante din lumea microorganismelor, legate de acțiunea virusurilor asupra eredității celulelor bacteriene. Este vorba de transducție și de lizogenie.

Fenomenul de lizogenie constă în aceea că o celulă bacteriană, luată dintr-o tulpină neafectată de virus, suferă, în anumite condiții, fenomenul de liză fagică și din ea se eliberează virusul. Se ia o celulă care aparține, în aparență, unei tulpini microbiene pe deplin sănătoase. Din celulele unei asemenea tulpini este imposibil să se obțină virusul și, totuși, această celulă dispune de o anumită capacitate potențială „de a genera" virusul. Să fie oare capabilă într-adevăr celula bacteriană să formeze ea însăși virusul? Sau poate virusul a pătruns cîndva în celula de origine a unei asemenea tulpini lizogene și a intrat într-o legătură atît de strînsă cu moleculele ei ereditare, încît a devenit un fel de parte a bacteriei? E posibil oare ca în anumite condiții virusul latent să înceapă fără veste să se înmulțească provocînd moartea bacteriei și eliberîndu-se ca virus matur?

Ultima ipoteză s-a dovedit a fi exactă. Cercetarea fenomenului de lizogenie a contribuit la descoperirea surprinzătoarei interrelații dintre structurile ereditare ale bacteriilor și virusurilor. Pînă acum ne-am ocupat de unitatea chimică a acestor structuri. Am subliniat că atît macromoleculele ereditare ale bacteriilor, cît și cele ale virusurilor sînt compuse din ADN (sau ARN). S-a dovedit însă că ele se caracterizează și printr-o strînsă unitate biologică, virusul putînd pătrunde în interiorul structurii ereditare a celulelor bacteriilor lizogene.

De obicei, virusurile bacteriene care au pătruns în celulă se înmulțesc și provoacă pieirea ei. După primele 20 de minute de la infectare, celulele sînt lizate și pun în libertate numeroși viruși care s-au înmulțit în ele. Totuși, în unele împrejurări (pînă acum insuficient lămurite), bacteriofagul pătrunde în celulă și apoi parcă dispare în ea. Dacă distrugem o asemenea celulă, nu găsim în ea bacteriofagul, dar o asemenea celulă este lizogenă. Prin urmare, particula de virus dobîndește unele proprietăți noi care o deosebesc de bacteriofagul obișnuit. Deoarece acest virus modificat dă ulterior bacteriofagul matur, a căpătat denumirea de profag.

Prezența profagului în celula bacteriană nu rămîne fără consecințe pentru această celulă. Sub influența profagului, celulele bacteriene lizogene dobîndesc o imunitate față de fagul pe care sînt capabile să-l elimine (fagul omolog).

Sub ce formă se află în celulă virusul care a pătruns în ea și s-a transformat în profag? S-a stabilit că în aceste condiții nu se mai formează proteinele bacteriofagului. Astfel, spre deosebire de comportarea obișnuită a moleculelor de ADN ale bacteriofagului care „strică" programul genetic al celulei bacteriene prin distrugerea ADN-ului bacterian, în cazul dat, ADN-ul profagului nu-și mai trimite mesagerii în citoplasma celulei. Capacitatea de dirijare de care dispune

Scanned with OKEN Scanner

ADN-ul unui asemenea profag se află în stare latentă. În aceste condiții nu are loc nici înmulțirea profagului. În consecință, dacă bacteriofagul pătrunde în celulă și se transformă în profag, el rămîne un timp îndelungat în această celulă. Într-adevăr, analiza celulelor bacteriene prin diferite metode a demonstrat că profagul se localizează în nucleul bacteriilor în așa fel încît un profag revine unui nucleu al celulei bacteriene.

Această legătură dintre profag și nucleul bacteriei este profundă, fapt care se constată în cazul înmulțirii celulei bacteriene lizogene. În momentul autoreproducerii moleculelor de ADN din celula bacteriană se autoreproduc — în deplină concordanță cu acest proces — și particulele de profag. Astfel, pentru un anumit timp, profagul devine o parte din sistemul ereditar al celulei bacteriene. El dobîndește proprietățile aparatului genetic al celulei bacteriene. Analiza amănunțită a structurii componentelor nucleare ale bacteriilor a arătat că profagul dobîndește toate aceste proprietăți surprinzătoare datorită faptului că el pătrunde în interiorul structurilor ereditare ale bacteriei.

Studiul eredității la bacterii, de exemplu la colibacil, a arătat că moleculele de ADN, purtătoare ale informației ereditare a acestor bacterii, nu sînt dispersate în celulă, adică nu se află în ea într-o stare difuză. Dimpotrivă, ele sînt organizate într-un mod caracteristic în nucleul celulei bacteriene, fiind legate într-un singur fir lung, în care moleculele liniare de ADN sînt prinse cap la cap.

Prin experiențe asupra recombinărilor la bacterii, experiențe pe care le vom expune mai jos, s-a putut clarifica organizarea genetică internă a acestor filamente cromosomice din nucleele bacteriilor. S-a constatat că, pătrunzînd în celula bacteriană, fagul dobîndește proprietăți de profag în cazul în care este inclus în cromosomul bacteriei, ocupînd locul său determinat specific. ADN-ul profagic capătă efectiv proprietățile structurii genetice a bacteriei, intrînd în rîndul moleculelor ereditare din care se compune „cromosomul" celulei bacteriene. De aceea se și produce acea multiplicare coordonată, simultană, a structurilor nucleare bacteriene și profagice. Mult timp toți descendenții unei bacterii lizogene conțin cîte o particulă de profag pentru un nucleu în fiecare celulă.

Totuși, după un anumit timp, sub influența unor cauze naturale încă nelămurite sau, experimental, în urma modificării unor condiții, de exemplu sub acțiunea radiațiilor ultraviolete sau a radiațiilor gamma, profagul își pierde capacitatea de a se multiplica în mod armonic o dată cu cromosomii celulei bacteriene. El este pus în libertate, iar acidul său dezoxiribonucleic își redobîndește proprietățile de dirijare și trimite impulsuri în citoplasma celulei bacteriene. ADN-ul bacteriei cu care pînă atunci profagul coexistase începe să se descompună. Profagul trece în formă vegetativă și se multiplică. Înmulțindu-se, fagul lizează celula-gazdă și iese în mediu sub formă de bacteriofag matur temperat, care pătrunde în alte celule bacteriene. O parte din aceste celule sînt îmbolnăvite, iar cealaltă parte dă din nou forme lizogene.

Iată uimitoarea comportare a ADN-ului bacteriofagilor temperați care determină lizogenia bacteriilor. Ea demonstrează profunda unitate biologică dintre moleculele ereditare ale bacteriilor și virusurilor. Această unitate poate avea o mare importanță pentru o serie de fenomene complexe. De exemplu, este foarte probabil ca tocmai interacțiunea dintre cromosomii celulelor-gazdă și acela al virusului să joace un rol în provocarea de către virusuri a cancerului la oameni și la animale. În sfîrșit, chiar această capacitate de a pătrunde în cromosomii bacteriilor și de a ieși apoi din ei asigură în lumea bacteriilor transmiterea a o serie de proprietăți de la o celulă bacteriană la alta. În acest caz întîlnim din

Scanned with OKEN Scanner

nou fenomene de restructurare dirijată a zestrei ereditare a celulei bacteriene, analoge cu cele pe care le-am văzut cînd am analizat fenomenele de transformare.

Ca urmare a modificărilor survenite în condiţii naturale, ADN-ul dintr-o celulă poate intra în altă celulă prin contactul dintre celulele moarte ale unei tulpini bacteriene şi celulele vii ale alteia. În condiţii experimentale, după izolarea şi purificarea chimică a moleculelor de ADN obţinute din celulele unei anumite tulpini, aceste molecule sînt introduse într-un mediu artificial unde se înmulţesc celulele unei alte tulpini. În ambele cazuri, pătrunderea ADN-ului în celulele bacteriene provoacă transformarea lor ereditară, conform proprietăţilor ADN-ului care a pătruns în interiorul lor.

S-a dovedit însă că în condiţii naturale rolul de vector al moleculelor de ADN de la o celulă bacteriană la alta îl poate îndeplini virusul. Bacteriofagii temperaţi care pătrund în cromosomii bacterieni şi se transformă în profagi sînt capabili, atunci cînd se eliberează şi infectează celule noi, să transporte molecule de ADN bacterian. S-a constatat că profagul care se eliberează din cromosomul celulei-gazdă nu iese singur, ci antrenează cu el şi partea vecină din cromosomul celulei-gazdă. Trecînd în faza vegetativă, profagul se multiplică o dată cu particula de cromosom bacterian pe care a antrenat-o şi o duce cu el şi după moartea celulei bacteriene. Pătrunzînd în alte celule, un astfel de bacteriofag aduce cu sine molecule specifice de ADN al unei alte tulpini bacteriene şi provoacă modificări ereditare dirijate în celulele pe care le-a infectat.

În acest scop se ia un tub îndoit, se împarte în două printr-un filtru atît de fin, încît să nu lase să treacă prin el celulele, ci numai bacteriofagii (fig. 23). Într-una din jumătăţile tubului se introduc celule mutante bacteriene care au pierdut capacitatea de a sintetiza histidina (*hist*$^-$), iar în cealaltă — celule mutante bacteriene lipsite de capacitatea de a sintetiza triptofanul (*tript*$^-$). Pentru a asigura creşterea celulelor *tript*$^-$ se adaugă în mediu triptofan, care este asimilat ca atare de celulele bacteriilor. Trebuie menţionat că mutanţii a căror capacitate de a sintetiza unele substanţe (biosinteză) se schimbă în urma unor modificări survenite în cromosomi au căpătat denumirea de mutanţi biochimici. În cazul nostru, experienţa se face cu doi mutanţi biochimici care au pierdut capacitatea de a sintetiza, unul triptofanul (*tript*$^-$), iar celălalt histidina (*hist*$^-$).

Asemenea mutanţi sînt capabili să trăiască şi să se multiplice numai dacă în mediul lor de cultură se adaugă substanţa pe care nu o pot sintetiza. Mutanţii care au nevoie de prezenţa în mediu a unui anumit compus chimic au fost denumiţi mutanţi insuficienţi biochimici sau auxotrofi. Se numeşte auxotrofă celula care are nevoie de hrană dinafară *. Asemenea celule nu sînt capabile să-şi sintetizeze toţi compuşii organici necesari din moleculele simple pe seama cărora trăiesc tulpinile obişnuite, normale, care pot efectua o sinteză completă. Acestea din urmă cresc şi se multiplică în aşa-numitul mediu minimal. Acest mediu conţine un ansamblu de substanţe indispensabile, fără de care nu este posibilă

---

* Auxotrof = hrană care permite creşterea: *auxo* = a creşte şi *trefo* = a hrăni, deci vieţuitoare care au nevoie de hrană obligatorie — hrană de aport exogen obligator care să le permită creşterea. Bacteriile auxotrofe sînt heterotrofe dependente de existenţa uneia sau unor anumite molecule organice în mediul de cultură. —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

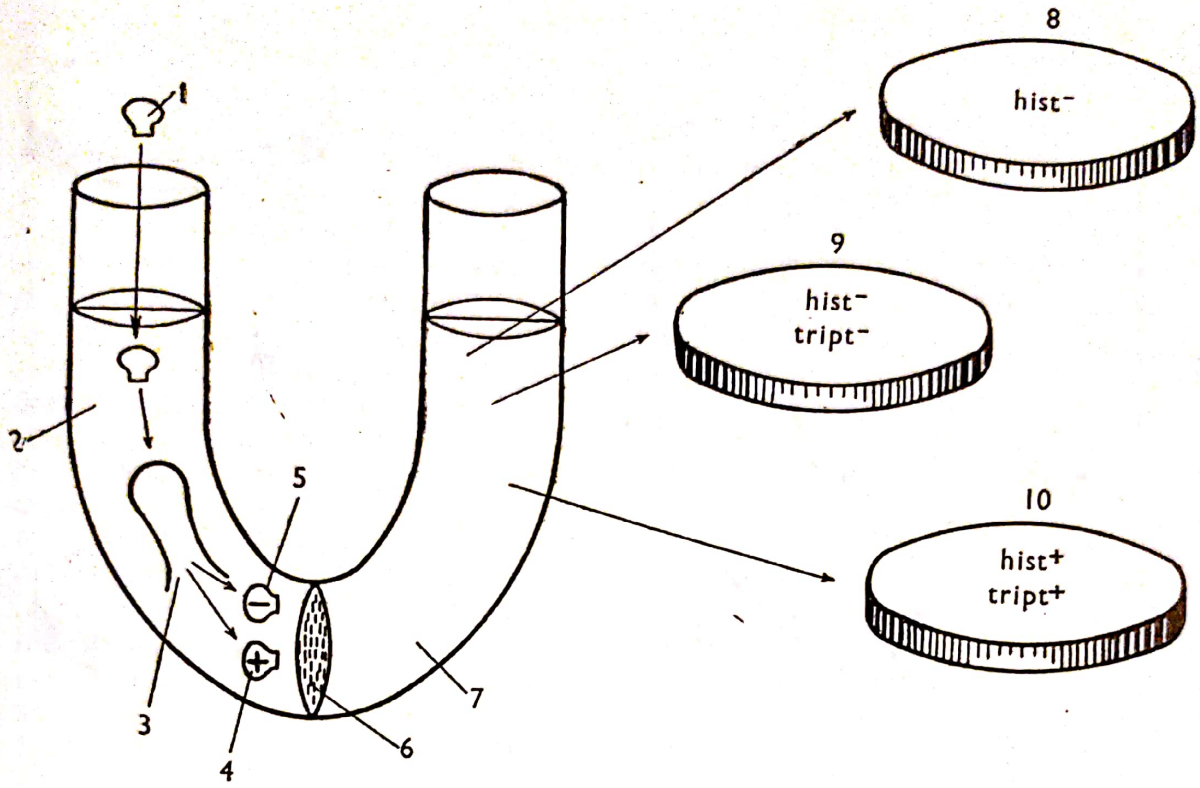


Fig. 23. Transducţia la bacterii I.

Bacteriograful este introdus în celulele lipsite de capacitatea de a sintetiza aminoacidul triptofan (*tript*⁻). Transducţia duce la transformarea unei părţi din celulele *hist*⁻ (auxotrofe) în celulele prototrofe şi a unei alte părţi în celule care au pierdut capacitatea de a sintetiza ambii aminoacizi (*hist*⁻, *tript*⁻). Masa principală a celulelor păstrează proprietatea tulpinii originare (*hist*⁻). Proprietăţile individuale ale celulelor se manifestă în creşterea coloniilor lor în plăci Petri, pe diferite medii. Tubul de sticlă îndoit este împărţit printr-un filtru ce nu lasă să treacă bacteriile, dar care e traversat de virus: *1* — virus; *2* — mediul minimal, la care s-a adăugat triptofan, în care creşte mutantul auxotrof *tript*⁻; *3* — liza celulelor; *4* — bacteriofagi care au antrenat locusul cromosomic *hist*+ ; *5* — bacteriofag care a antrenat locusul *tript*⁻; *6* — filtru; *7* — pătrunderea bacteriofagului în a doua jumătate a tubului care conţine mediul minimal cu histidiană în care cresc celulele mutante auxotrofe *hist*⁻; *8* — creşterea celulelor mutante *hist*⁻ nemodificate pe mediul minimal cu histidină; *9* — creşterea celulelor cu dublă mutaţie *hist*⁻ şi *tript*⁻ (transducţia în sensul mutaţiei *tript*⁻); *10* — creşterea pe mediul minimal a celulelor care dispun de două gene normale (transducţie în sensul mutaţiei *hist*+, care duce la apariţia unui prototrof).

sinteza compuşilor organici necesari celulei. Pentru bacilul coli, mediul minimal are următoarea compoziţie (în grame la litru):

Glucoză	1,0
KH_2PO_4	2,0
K_2HPO_4	7,0
Na citrat + $5H_2O$	0,5
$MgSO_4 + 7H_2O$	0,1
$(NH_4)_2SO_4$	1,0

Mediul minimal conţine azot, potasiu, hidrogen, oxigen, fosfor, sulf şi alte substanţe necesare pentru sinteza proteinelor, acizilor nucleici, glucidelor, vitaminelor şi altor compuşi organici. Celulele normale ale bacteriilor, capabile să sintetizeze din substanţe simple toţi compuşii organici complecşi care intră în

Scanned with OKEN Scanner

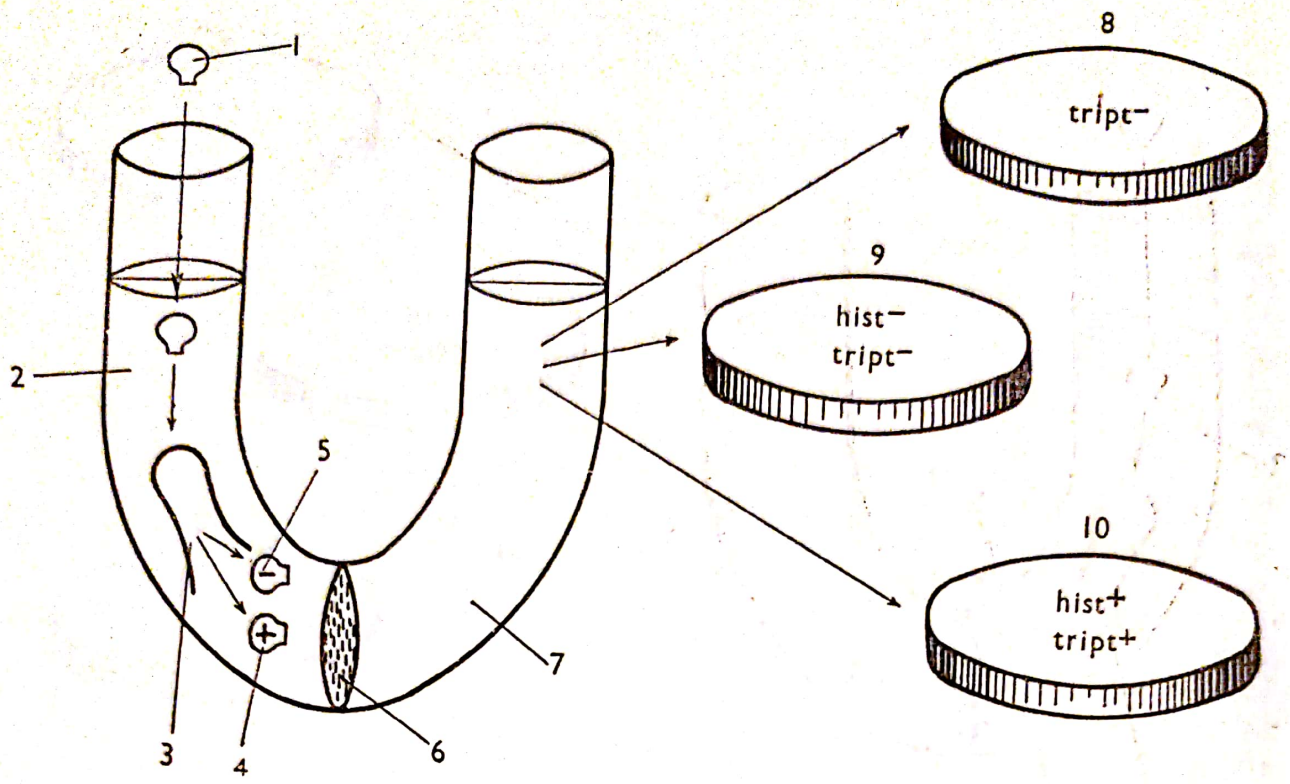


Fig. 24. Transducţia la bacterii II.

Bacteriofagul este introdus în celulele lipsite de capacitatea de a sintetiza histidina (*hist*⁻). Transducţia duce la transformarea unei părţi din celulele *tript*⁻ în celule prototrofe şi a altei părţi în celule care au pierdut capacitatea de a sintetiza ambii aminoacizi (*hist*⁻ şi *tript*⁻). Masa principală a celulelor păstrează proprietatea tulpinii iniţiale (*tript*⁻). Proprietăţile individuale ale celulelor se manifestă în creşterea coloniilor lor în plăci Petri pe diferite medii. Tubul de sticlă îndoit este separat printr-un filtru prin care nu trec celulele bacteriene, dar care e traversat de virus: *1* — virus; *2* — mediul minimal la care s-a adăugat histidină în care creşte mutantul auxotrof *hist*⁻; *3* — liza celulelor; *4* — bacteriofag care a antrenat locusul cromosomic *tript*+; *5* — fag care a antrenat locusul *hist*⁻; *6* — filtru; *7* — pătrunderea bacteriofagului în a doua jumătate a tubului care conţine mediul minimal cu triptofan în care cresc celulele mutante auxotrofe *tript*⁻; *8* — creşterea celulelor mutante *tript*⁻ nemodificate pe mediul minimal cu triptofan; *9* — creşterea celulelor care au o dublă mutaţie *hist*⁻ şi *tript*⁻ (transducţie în sensul mutaţiei *hist*⁻); *10* — creşterea pe mediul minimal a celulelor care dispun de două gene normale *hist*+ şi *tript*+ (transducţie în sensul mutaţiei *hist*+ care duce la apariţia unui prototrof).

componenţa celulei au căpătat denumirea de prototrofe *. Mutanţii biochimici lipsiţi de capacitatea de a sintetiza o anumită substanţă sînt notaţi cu semnul minus care urmează după denumirea prescurtată a moleculei ce nu poate fi sintetizată (*tript*⁻, *hist*⁻ etc.). Pe de altă parte, locusurile cromosomilor care asigură desfăşurarea sintezei unei anumite molecule sînt notate cu ajutorul simbolului plus (*tript*⁺, *hist*⁺ etc.).

Astfel, la experienţa noastră de transducţie participă doi mutanţi auxotrofi (*hist*⁻ şi *tript*⁻), pentru a căror creştere se adaugă la mediu aminoacidul corespunzător (fig. 23 şi 24).

Introducerea mutanţilor biochimici aparţinînd unui tip (*hist*⁻) şi celuilalt (*tript*⁻), fiecare în cîte o jumătate a unui tub împărţit în două (fig. 23 şi 24), nu provoacă nici o modificare în celulele acestor mutanţi, fiecare din ele îşi

* Bacteriile prototrofe sînt heterotrofe capabile să-şi sintetizeze toate moleculele organice utilizînd ca sursă de carbon organic una sau două molecule — în cazul de faţă glucoza şi citratul. Într-un sens mai restrîns, prototrofele sînt heterotrofe capabile să fixeze azotul atmosferic, spre deosebire de heterotrofele obişnuite care au nevoie de molecule organice ca sursă de carbon şi energie şi de azot sub formă de compuşi minerali sau organici.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

păstrează integral proprietăţile. Tabloul se schimbă însă radical dacă se introduce în experienţă bacteriofagul care pătrunde în celulele bacteriene aflate într-o jumătate a tubului şi apoi provoacă transducţia în celulele din cealaltă jumătate.

Astfel, dacă în jumătatea stîngă a tubului (fig. 23) se introduce un bacteriofag temperat, acesta pătrunde în cromosomii unei părţi din celulele mutante lipsite de capacitatea de a sintetiza triptofanul (*tript*$^-$) şi lizogenizează aceste celule. După liza celulei, bacteriofagul împreună cu moleculele de ADN antrenate de el din cromosomul celulei bacteriene-gazdă trece prin filtru şi provoacă fenomenul de transducţie. Acest fenomen este foarte variat şi priveşte cele mai diferite locusuri ale cromosomilor bacterieni. În exemplul analizat ne interesează numai cazurile în care bacteriofagul antrenează unele locusuri din cromosom de care depinde capacitatea bacteriilor de a sintetiza triptofanul sau histidina. Liza celulelor mutante care poartă locusul *tript*$^-$ duce la apariţia unor complexe între bacteriofag şi acest locus (bacteriofag plus *tript*$^-$), sau locusul pentru sinteza normală a histidinei (bacteriofag plus *hist*$^+$). Străbătînd filtrul, bacteriofagul trece la celulele mutanţilor *hist*$^-$ (jumătatea dreaptă a tubului) şi provoacă transducţia unora dintre ele. Transducţia prin complexul bacteriofag plus *tript*$^-$ duce la apariţia unor celule care prezintă două mutaţii biochimice (*tript*$^-$ plus *hist*$^-$). Pentru creşterea unei asemenea tulpini este necesară adăugarea la mediul minimal a doi aminoacizi gata formaţi (triptofan şi histidină). Transducţia provocată de complexul bacteriofag plus *hist*$^+$ duce la apariţia unor celule prototrofe normale (*tript*$^+$ plus *hist*$^+$). Creşterea unor asemenea colonii este posibilă pe mediul minimal pur. Masa principală a celulelor aflate în jumătatea dreaptă a tubului rămîne nemodificată, adică nu suferă o transducţie; celulele cresc ca şi cele iniţiale, pe mediul minimal la care s-a adăugat histidină.

Punerea în evidenţă a tuturor acestor tipuri de mutaţii nu prezintă dificultăţi, deoarece, în cazul în care ereditatea lor ar rămîne nemodificată, celulele din jumătatea dreaptă a tubului, unde au fost introduse numai bacterii mutante *hist*$^-$, nu ar putea să crească decît pe un mediu cu histidină. În mediul minimal toate aceste celule mor. Prin urmare, dacă se însămînţează cîteva milioane de celule în plăci Petri (fig. 23) cu mediu minimal şi în aceste condiţii se constată că unele celule sînt viabile, înseamnă că vom găsi forme noi, şi anume celule prototrofe, adică celule capabile să sintetizeze toţi compuşii organici. O asemenea metodă de selecţionare se numeşte selecţie reactivă. Toate formele care nu corespund mediului de selecţie dat (în cazul nostru — condiţiile de creştere pe mediul minimal) pier; supravieţuiesc numai formele noi, capabile să trăiască în condiţiile de mediu date. Pe aceeaşi cale a selecţiei reactive se poate pune în evidenţă şi apariţia celulelor care au suferit ambele mutaţii biochimice (*hist*$^-$, *tript*$^-$). Astfel de celule nu pot să trăiască nici pe mediul minimal pur şi nici pe mediul minimal cu histidină. Ele supravieţuiesc numai în cazul în care s-au introdus în mediu ambii aminoacizi, adică atît histidina, cît şi triptofanul.

În fig. 24 este prezentată imaginea transducţiei atunci cînd aceiaşi mutanţi biochimici sînt dispuşi invers, în partea dreaptă şi stîngă a tubului. Şi în acest caz, transducţia duce la apariţia de celule prototrofe şi de celule purtătoare ale celor două mutaţii biochimice. Totuşi masa principală a celulelor nemodificate aparţine în acest caz tipului *hist*$^-$ şi nu *tript*$^-$, ca în prima experienţă.

Experienţele de lizogenie şi transducţie au dezvăluit unele fenomene uimitoare. Ele au relevat intima întrepătrundere dintre lumea virusurilor şi aceea a bacteriilor. În cazul lizogeniei, partea genetic activă a virusului poate pătrunde în cromosomul bacterian şi, sub formă de profag, să se transforme pentru un

Scanned with OKEN Scanner

anumit timp într-un fel de parte a aparatului cromosomic bacterian. Apoi, trecînd în faza de înmulţire vegetativă, acest virus se eliberează din cromosomul bacterian şi, părăsindu-l, poate antrena acel sector cromosomic în care, sau alături de care, se află sub formă de profag în interiorul cromosomului. Acest complex, alcătuit din bacteriofag plus sectorul de cromosom bacterian, pătrunde în celule bacteriene noi şi, datorită bacteriofagului, sectorul cromosomic al fostei sale gazde devine factorul biologic care transformă ereditatea noii celule bacteriene în care a pătruns. Studiul legilor transducţiei a făcut posibilă descoperirea lămpii lui Aladin cu ajutorul căreia a fost luminată structura internă a cromosomului din celula bacteriană. S-a dovedit că un cromosom conţine numeroase unităţi elementare (locusuri, gene) dispuse liniar în sensul lungimii lui.

Studiind fenomenele de mutaţie, transformare şi transducţie, cercetătorii au pătruns în domeniul vast al eredităţii corpusculare (genice) a bacteriilor. Fenomene de ereditate corpusculară au fost descoperite anterior la toate plantele, animalele şi macroorganismele studiate. Caracterul corpuscular al eredităţii şi distribuţia liniară a genelor în filamentul cromosomic au fost descoperite în acelaşi timp şi la bacterii şi la virusuri.

Aşadar, în aceste două fenomene, adică în caracterul corpuscular al eredităţii şi în dispoziţia liniară a genelor în filamentele cromosomice am întîlnit particularităţile comune ale structurii materialului genetic, caracteristice tuturor fiinţelor de pe pămînt.

Datele expuse în acest capitol referitoare la modul de pătrundere a virusurilor în celulă, la creşterea şi înmulţirea lor, la esenţa legăturii dintre virusuri şi bacteria lizogenă, la fenomenul de transformare în care ADN-ul chimic pur transformă proprietăţile celulelor, la transducţie, prin care moleculele de ADN sînt transportate de virusuri dintr-o celulă bacteriană în alta, arată clar că informaţia ereditară este legată de moleculele de acizi nucleici.

Dar însemnătatea moleculelor de ADN şi ARN nu se limitează la transmiterea proprietăţilor ereditare prin trecerea moleculelor de acizi nucleici de la o generaţie la alta.

Moleculele de ADN şi ARN deţin locul principal în chimismul, în fiziologia şi în bioactivitatea generală a celulei. Aceasta datorită faptului că tocmai aceste molecule programează sinteza proteinelor specifice, adică a substanţelor care joacă rolul cel mai important în procesele biologice. Activitatea proteinelor-enzime este necesară chiar şi pentru sinteza acizilor nucleici. Iată cum se prezintă unitatea în viaţa celulei, întemeiată pe legătura reciprocă indisolubilă dintre principalele sale componente: proteinele şi acizii nucleici.

Teoria discontinuităţii informaţiei ereditare a fost demonstrată printr-un mare număr de fapte privitoare la caracterul apariţiei de noi deviaţii ereditare (mutaţii).

Am văzut că moleculele de ADN, care în procesul de transformare trec din celulele unei tulpini bacteriene în celulele altei tulpini, sau care sînt transportate de virus prin transducţie, provoacă în aceste celule apariţia unor caractere noi. Masa moleculelor active implicate în transformare s-a dovedit a fi de aproximativ 10^6, or această mărime caracterizează masa moleculară a diferitelor molecule de ADN. Asemenea molecule nu transmit nicidecum informaţia ereditară a celulei bacteriene în ansamblu. Dimpotrivă, ele poartă numai informaţia ce determină dezvoltarea unor caractere izolate ale celulei bacteriene.

Scanned with OKEN Scanner

Pe de altă parte, însăşi apariţia unor deosebiri între diferitele caractere ale celulelor bacteriene se bazează pe modificările structurii chimice a moleculelor lor ereditare. Apariţia unor noi proprietăţi mutante se datoreşte faptului că atît în condiţii naturale, cît şi experimental, cu ajutorul diferiţilor factori fizici şi chimici, apar modificări moleculare în structurile ereditare ale celulelor. Aceste modificări se transmit descendenţilor. Astfel se realizează procesul de apariţie a noilor modificări ereditare cărora li s-a dat denumirea de mutaţii.

La colibacil, de pildă, se întîlnesc mutaţii din cele mai variate. Apar astfel celule rezistente la acţiunea toxică a azidei sau celule care au pierdut capacitatea de a sintetiza biotina (asemenea mutante pot trăi numai în cazul cînd biotina este adăugată la mediu, pătrunzînd astfel în stare finită în celula mutantă), sau celule care au pierdut capacitatea de a sintetiza leucina etc.

Aşadar, în procesul apariţiei mutaţiilor nu se produce modificarea întregii informaţii ereditare conţinute în celula bacteriană. Dimpotrivă, studiul mutanţilor ne duce la ipoteza că în procesul de mutaţie se modifică unele părţi elementare ale informaţiei ereditare. Studiul mutaţiilor arată că ereditatea este de natură corpusculară. Modificînd unele proprietăţi ereditare, mutaţia nu le alterează pe celelalte. Astfel, în lanţurile complexe ale biosintezelor desfăşurate în celula bacteriană, mutaţia poate afecta una din reacţiile care duc la formarea vitaminei B_1, sinteza tuturor proteinelor, a glucidelor şi a altor substanţe rămînînd normală. Totodată este evident că o celulă poate acumula în mod succesiv cîteva mutaţii şi atunci întregul grup de caractere se va schimba în comparaţie cu însuşirile celulei iniţiale.

În urma studierii fenomenului de transducţie s-a dovedit că unele caractere modificate prin mutaţie pot fi transmise de bacteriofag de la celulele mutante la celulele normale.

Aşadar, pe cînd datele obţinute prin studiul mutaţiilor au dus la presupunerea că în celulă există unităţi elementare ale eredităţii, faptele legate de transducţie au „arătat" în sensul propriu al cuvîntului realitatea fizică a existenţei unităţilor elementare ale eredităţii. În procesul de transducţie bacteriofagul preia o anumită parte fizică din materialul ereditar al unei celule şi o transportă într-o altă celulă.

Au fost obţinute dovezi fizice ale caracterului corpuscular al eredităţii şi în experienţele de transformare a bacteriilor. În acest caz, în celulă pătrund molecule de ADN care modifică anumite caractere determinate ale bacteriilor.

Ereditatea este deci corpusculară, fiind alcătuită dintr-un complex de unităţi. Baza fizică a acestor unităţi o constituie moleculele de ADN.

Unităţile elementare ale eredităţii au căpătat denumirea de gene. Denumirea însăşi a ştiinţei despre ereditate a apărut după ce a fost formulată concepţia despre genă * ca unitate elementară a eredităţii. Ştiinţa eredităţii organismelor a căpătat numele de genetică.

Se presupune că genele sînt corpusculi care poartă o parte din informaţia ereditară şi reprezintă structuri atît de elementare, încît nu mai conţin nici un fel de unităţi mai mici, fiind în acelaşi timp independente din punct de vedere fizic.

Organizarea sistemului ereditar este însă extrem de complicată. Unele gene constituie ele însele sisteme moleculare complexe. Complexele de gene sînt grupate în agregate specifice, şi anume în cromosomi, în cadrul cărora, la transmi-

---

* Genă de la *genna* = origine, naştere sau de la *gennao* = a da naştere. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

terea informației, ele depind de interacțiunea cu alte gene aflate în interiorul acestor agregate.

Trăsăturile complexe ale organizării eredității sînt net relevate chiar la prima comparare a datelor privitoare la mutații cu cele referitoare la transducția la bacterii.

La unele mutații intervine o modificare a unei părți din informația celulei. În acest caz în complexul de molecule de ADN, care constituie baza eredității, se modifică unele molecule sau părți din molecule. Acest proces are un caracter legic, deoarece apariția diferitelor mutații se repetă. Fiecare mutație apare cu o anumită frecvență în condiții de mediu date. Astfel, la ciuperca *Neurospora* apariția mutațiilor care duc la pierderea capacității de a sintetiza inozita are loc cu o frecvență de 0,02 la un milion, cele privind capacitatea de a sintetiza adenina — cu frecvența de 0,2 la un milion etc.

Apariția mutațiilor iterative atestă existența unor unități ale mutațiilor. De fiecare dată cînd o mutație se repetă se modifică o anumită parte din informația genetică a celulei, deci se modifică o structură moleculară perfect determinată.

Dacă unitatea de mutație caracterizează modificarea unei molecule cu caracter specific, s-ar putea presupune că și în transducție aceeași unitate va constitui acea parte a materialului genetic care este transportată de bacteriofag dintr-o celulă în alta.

Procesul de apariție a mutațiilor diferă calitativ de procesele de modificare a eredității care au loc în transformare și în transducție. În cazul mutațiilor genelor apar modificări chimice în moleculele de ADN, structurile ereditare noi datorîndu-se transformării chimice a structurilor vechi. În transducție și în transformare se transmite dintr-o celulă în alta o parte din informația genetică existentă sub forma de molecule de ADN. În consecință, în celula transformată apare o structură ereditară nouă pentru această celulă, care însă nu se datorește modificărilor chimice ale materialului conținut în celulă, ci faptului că în ea au pătruns molecule străine de ADN.

Am arătat mai înainte că primul tip de modificare a eredității prin transformările chimice ale moleculelor ereditare poartă denumirea de mutații. Tipul al doilea de modificare a eredității care se bazează pe crearea unui tip nou, adică pe obținerea unor combinații noi și a unei noi interacțiuni între genele existente se numește recombinare.

Aceste două posibilități ale modificării eredității au o însemnătate fundamentală în evoluția și selecția organismelor. În ce privește procesele de apariție a mutațiilor, ele sînt în esență asemănătoare la toate organismele. Acest fapt este firesc, deoarece mutațiile sînt o consecință a modificării moleculelor de acizi nucleici, care reprezintă moleculele ereditare ale tuturor organismelor.

În ce privește recombinările, am văzut că ele se realizează la bacterii prin transformare și prin transducție. Datorită acestor mecanisme, structurile ereditare ale diferitelor celule bacteriene pot schimba între ele unele părți ale lor, adică pot combina în mod diferit elementele ereditare ale diverselor celule. La formele superioare de viață, procesul de recombinare se realizează — după cum vom vedea în capitolele următoare — prin înmulțirea sexuată.

Știm că fenomenul mutațiilor iterative a generat ideea existenței unei unități a mutației.

Se naște întrebarea: care este forma de realizare a recombinării? Există oare o unitate de recombinare, adică o parte din materialul genetic ce se transmite, de exemplu, în procesul de transducție, care rămîne constantă din cauza caracterului

Scanned with OKEN Scanner

ei elementar și coincide oare această unitate cu unitatea de mutație? Dacă o genă ca atare ar reprezenta un corpuscul independent, în așa fel încît prin mutație proprietățile moleculei de ADN să se modifice în întregime iar prin recombinare diferitele gene să se transmită ca unități fiziologice elementare, ar trebui ca unitatea de mutație să coincidă cu unitatea de recombinare.

Experiențele au demonstrat că nu există o asemenea identitate. În numeroase cazuri, atît în procesul transformării, cît și în procesul transducției, celulele supuse modificării dobîndesc, prin recombinare, într-adevăr, anumite proprietăți, care au apărut anterior în celula inițială ca rezultat al unei mutații. Totuși, adeseori, prin recombinare sînt transmise deodată două sau cîteva mutații. Volumul fizic al porțiunilor de ADN transmise în diferite cazuri de transformări și de transducții poate varia. Astfel, la transmiterea unor gene mutante masa moleculelor active de ADN care provoacă transformarea este de 10^6, iar în cazul transmiterii a două mutații este de $8 \cdot 10^6$, adică de opt ori mai mare.

Pe ce se bazează deosebirea dintre unitatea de mutație și unitatea de recombinare? Care este esența lor moleculară și care este dimensiunea lor moleculară? Vom analiza mai jos aceste probleme, cunoscînd astfel particularitățile cele mai intime ale organizării eredității. Dar înainte de a începe această analiză trebuie să examinăm, în linii generale, organizarea elementelor ereditare ale celulei și să lămurim bazele moleculare ale acestei organizări.

Organizarea eredității la bacterii a fost studiată în experiențele de recombinare, în primul rînd cu ajutorul transducției dintr-o celulă la alta a unor porțiuni din materialul genetic.

În procesul de transducție, în unele cazuri bacteriofagul antrenează din celula gazdă diverse părți ale materialului genetic. Compararea diferitelor porțiuni ale materialului genetic, recombinate prin intermediul bacteriofagului, a relevat o legitate remarcabilă. Combinarea genelor mutante transmise de bacteriofag s-a dovedit a nu fi întîmplătoare. Pentru a analiza problema combinării genelor vom nota o genă oarecare cu litera *K*. Această genă poate fi transportată de bacteriofag. Dacă în porțiunea transportată de bacteriofag se găsesc două gene, gena *K* se poate combina fie cu gena *M* (porțiunea *KM*), fie cu gena *L* (porțiunea *LK*). Nu este posibilă transducția genei *K* împreună cu alte gene fără prezența genelor *M* sau *L*. Astfel, gena *K* se transmite de către bacteriofag împreună cu gena *N* numai în combinația *KMN*, iar cu gena *I* — numai în combinația *ILK* etc.

Aceste date privitoare la transducție au arătat că genele sînt ordonate în interiorul celulei potrivit unei anumite reguli. Ele sînt organizate sub forma unui filament lung, compus din molecule de ADN și sînt așezate în acest filament într-o ordine liniară. Deoarece din punct de vedere fizic genele sînt unite, asociate în interiorul unei structuri, fiecare asemenea structură luată în parte a căpătat denumirea de grupare ligaturală (*linkage group*).

Studiind succesiv dimensiunile porțiunilor pe care le antrenează bacteriofagul în transducție, se poate fixa poziția tuturor genelor participante la mutație în interiorul cromosomului bacterian. Adeseori, pentru a sublinia latura fizică a fenomenului, adică faptul că mutația modifică o anumită structură moleculară din cromosom, structură care ocupă aici un loc determinat, se folosește expresia de mutație a unui locus al cromosomului care este folosită deseori și atunci cînd trebuie să se sublinieze că modificările care se produc într-un anumit loc al cromosomului nu reprezintă întotdeauna mutațiile genelor. Aceste modificări pot privi și organizarea structurală propriu-zisă a cromosomului, care va fi descrisă mai jos.

Scanned with OKEN Scanner

În fig. 25 este prezentată schema organizării genelor în cromosomul colibacilului. Comparînd datele obținute experimental prin transducție, s-a putut dovedi că toate genele colibacilului sînt unite într-o singură grupare ligaturală, fiind așezate în interiorul acestui cromosom unic într-o ordine liniară.

Pare ciudat faptul că într-un sistem atît de complex cum este celula vie, structurile ereditare sînt organizate în aparență primitiv, această organizare simplă avînd un caracter universal. Vom vedea din cele ce urmează că organizarea liniară a genelor în cromosomi este proprie deopotrivă omului, animalelor, plantelor, microorganismelor și virusurilor.

Organizarea liniară a genelor în cromosom constituie deci un fenomen legic, deoarece corespunde în mod desăvîrșit unei necesități principale, fundamentale a structurilor ereditare, fără realizarea căreia nu ar exista nici ereditate, nici înmulțire și nici viață. Această proprietate se manifestă în cazul înmulțirii structurilor ereditare prin replicare. Caracterul liniar al structurii ereditare asigură în cea mai mare măsură realizarea autoreproducerii cromosomilor. În procesul diviziunii în două celule-fiice trebuie să apară sisteme ereditare echi-

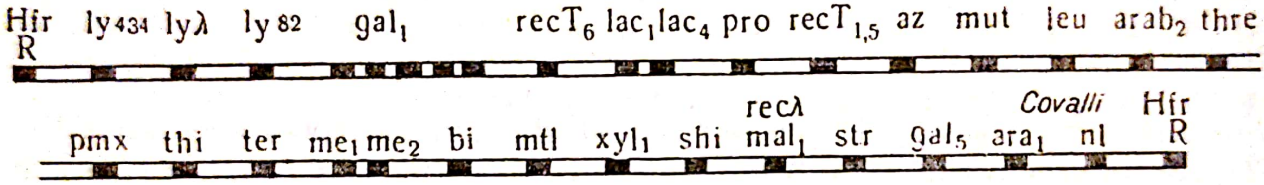


Fig. 25. Harta genetică a cromosomului colibacilului. Notări:
arab — folosirea arabinozei; *az* — rezistența la azidă; *bi* — biosinteza biotinei; *gal* — folosirea galactozei; *lac* — folosirea lactozei; *leu* — sinteza leucinei; *ly* — lizogenie; *mal* — folosirea maltozei; *nl* — rezistența la teramicină; *thi* — sinteza vitaminei B_1 etc.

valente, iterative; fiecare din aceste sisteme trebuie să dispună de informația ereditară completă a celulei inițiale. Aceasta se poate realiza numai prin autoreproducerea cromosomului. Realizarea autoreproducerii este condiționată de organizarea liniară a materialului genetic din cromosom. Bineînțeles, dispunerea liniară a genelor în cromosom reprezintă un rezultat al evoluției. În organizarea eredității, această particularitate este una din proprietățile adaptative fundamentale celulare a tuturor ființelor vii de pe Pămînt și ale organizării virusurilor care se înmulțesc în interiorul celulelor vii.

În ce constă esența autoreproducerii și de ce pentru realizarea ei este necesară dispunerea liniară a genelor în crosomomi? Care este legătura dintre autoreproducere și fenomenele anterior descrise ale mutațiilor, transformărilor, transducțiilor și lizogeniei la bacterii? Aceste probleme privesc bazele fenomenelor vitale și esența eredității. Le vom examina în capitolul următor.

BIBLIOGRAFIE

1. M. A. Peșkov, *Țitologhia bacterii*, Moskva-Leningrad, Izd.-vo, AN. S.S.S.R., pp. 56—117, 1955.
2. *A symposium on the chemical basis of heredit*, Sponsored by the McCollum—Pratt Institute, Baltimore, The Johns Hopkins press, 1957.
3. G. S. Stent, *The reproduction of viruses*, The physics and chemistry of life, „Scientific American", SUA, 1955, First British ed. 1957.

Scanned with OKEN Scanner

4. O. M a a l o e, *The genetic significance of viral* DNA, Proc. 3-th Intern. Congr. Biochemistry, Brussels, 1955, pp. 339—343, 1956.
5. S. M u d d, *Aspects of bacteria as cell and as organism*, în „Intern. Rev. Cytol". 2, 132—157, 1953.
6. R. W i l l i a m s, In: „Reviews of Modern Physics", v. 31, no.1, 1959.
7. R. V. H e s i n, *Rol dezocsiribonucleinobih chislot v proţessah transformaţii*, în „Uspehi sovremen biologhii", 66, 2 (5), 113, 1958.
8. W. B r a u n, *Bacterial genetics*, Philadelphia, 1957.
9. G. S. S t e n t, *Molecular Biology of Bacterial viruses*, Freeman and Company, San Francisco a. London, 1963.

4. Particularităţile genetice ale bacteriilor şi virusurilor în procesele de transformare, transducţie şi conjugare

Studiul problemei recombinărilor la bacterii ne-a arătat că în structurile ereditare ale celulei bacteriene (complexul genelor sale, denumit şi genotip) fiecare genă se află într-un singur exemplar. Tocmai aceasta face ca în cadrul organizării celulare, structura chimică a fiecărei gene să fie unică în înţelesul strict al acestui cuvînt. Orice modificare a structurii chimice a genei, adică orice mutaţie, se reflectă imediat în celulă, deoarece în acest caz o structură intracelulară originală este înlocuită cu o alta. Această condiţie a ereditătii, în care celula are o singură garnitură de gene, a fost denumită haploidie *. Bacteriile şi virusurile sînt haploizi tipici. Mai mult decît atît, la bacteriile bine studiate, cum sînt colibacilii şi salmonelele, s-a descoperit un singur cromosom, în interiorul căruia se află aşezată în ordine liniară garnitura sa haploidă de gene. Virusurile au în structura lor un singur filament de ADN, de asemenea cu o garnitură haploidă de gene.

Cînd în celula bacteriană pătrund molecule separate de ADN sau cînd, în cazul transducţiei, ele pătrund în celulă odată cu fagul, prima consecinţă a unui asemenea fenomen este alterarea caracterului haploid al celulei bacteriene. Să presupunem că celula tulpinii bacteriene respective are genotipul haploid, notat convenţional ca un complex de gene — *ABCDEFGHI*. În această celulă intră o moleculă de ADN din genotipul unei alte tulpini bacteriene. Această a doua tulpină conţine, de asemenea, un cromosom şi aceeaşi garnitură haploidă de gene, cu deosebirea că una din aceste gene (*E*) a suferit anterior o mutaţie. Genotipul acestei tulpini mutante are aspectul *ABCDeFGHI*. Transformarea se realizează sub acţiunea a diferite molecule heterogene de ADN. După izolarea chimică a ADN-ului din cromosomul acestei tulpini mutante se constată, *in vitro*, că există toate moleculele care fac parte din cromosomul tulpinii *e*, adică moleculele genelor *ABCDeFGHI*.

Introduse în mediul în care cresc celulele tulpinii *E*, toate aceste molecule pot pătrunde în celulele *E*. Dar, toate aceste molecule, în afara moleculelor *e*, există dinainte în aceste celule, de aceea fenomenul de transformare poate fi determinat numai de acţiunea acelor molecule noi pentru celulele *E*, purtătoare ale genei *e*.

* Haploid = în formă simplă.

Cum se produce acțiunea moleculelor heterologe de ADN și cum realizează aceste molecule, în condițiile date, fenomenul de transformare?

Trebuie să relevăm în primul rînd faptul că atunci cînd în celulele tulpinii *E* pătrund moleculele de ADN purtătoare ale genei *e*, celula își pierde caracterul strict haploid. Alături de locusul *E* din cromosomul celulei, în citoplasma ei apare omologul acestui locus, gena *e*, care a provenit prin mutație din gena *E*. Astfel, un singur locus al cromosomului este reprezentat în celulă de două ori. O parte din genotipul bacterian se dublează, realizîndu-se așa-numita diploidie * parțială a celulei bacteriene.

Transformările chimice pe care le suferă genele în procesul de mutație nu duc la pierderea omologiei lor. Mutațiile genelor reprezintă un fel de izomeri ai aceleiași structuri moleculare de bază. De aceea asemenea forme de mutație, aparținînd aceleiași gene, sînt denumite alelele genei respective. Gena *E*, care determină pierderea virulenței celulei bacteriene precum și starea acesteia sub formă de genă *e*, care condiționează dezvoltarea virulenței unor asemenea celule, sînt două alele ** ale aceleiași gene care ocupă în cromosom un loc determinat. Bineînțeles, în haploidie genotipul bacteriilor are cîte o alelă a fiecăreia din genele ce corespund genotipului speciei bacteriene date. Cînd în celulă pătrunde un ADN heterolog, izolat din cromosomii unei alte tulpini bacteriene, în această celulă se produce o diploidie parțială, deoarece un anumit locus al cromosomului este dublat. În aceste condiții unul din locusuri există în cromosomul celulei respective, iar al doilea este introdus aci sub formă de molecule libere de ADN. În consecință, celula nu conține o singură alelă (*E* sau *e*), ci două alele (*E* și *e*) care de obicei există separat în celulele unor tulpini diferite.

Moleculele libere de ADN care transmit informația ereditară specifică (*e*), diferită de informația ereditară a locusului omolog din cromosomul bacterian (*E*), pot fi asimilate de către citoplasma celulei prin scindarea lor în părțile componente și prin restructurarea lor după modelul moleculelor necesare fiecărei celule. Dar nu întotdeauna se produce acest lucru. Pătrunderea moleculelor de ADN poate provoca transformarea eredității celulelor.

Moleculele heterologe de ADN pătrund în genotipul unei celule noi pentru ele, îndepărtează cealaltă alelă care își avea locul ei bine stabilit în cromosom și modifică astfel informația ereditară a bacteriei.

Cum se desfășoară această luptă dintre moleculele de ADN intrate în celulă și moleculele existente în cromosomul celulei-gazdă? În ce constă mecanismul proceselor de transformare la bacterii?

Acest mecanism este legat de procesele de autoreproducere a cromosomilor bacterieni, în timpul cărora moleculele heterogene de ADN abia pătrunse elimină locusul omolog din celula bacteriană.

În paragraful următor vom analiza un model chimic de replicare a moleculelor de ADN. În cele ce urmează ne vom ocupa pe scurt de caracterul genetic al procesului de reproducere a cromosomilor bacterieni. Vom vedea că reproducerea moleculelor de ADN este legată de atragerea din citoplasmă a unor „cărămizi" (nucleotide) distincte către filamentul inițial de ADN. Din aceste „cărămizi" așezate într-o anumită ordine alături de filamentul inițial de ADN se formează ca pe o matriță lanțul molecular nou al celulelor-fiice.

În procesele de transformare, mecanismul se complică. În acest caz se introduc în citoplasma unei celule molecule de ADN izolate din cromosomii altei tulpini

---

* Diploid — în formă dublă.

** *Allelos* — altul, diferit — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

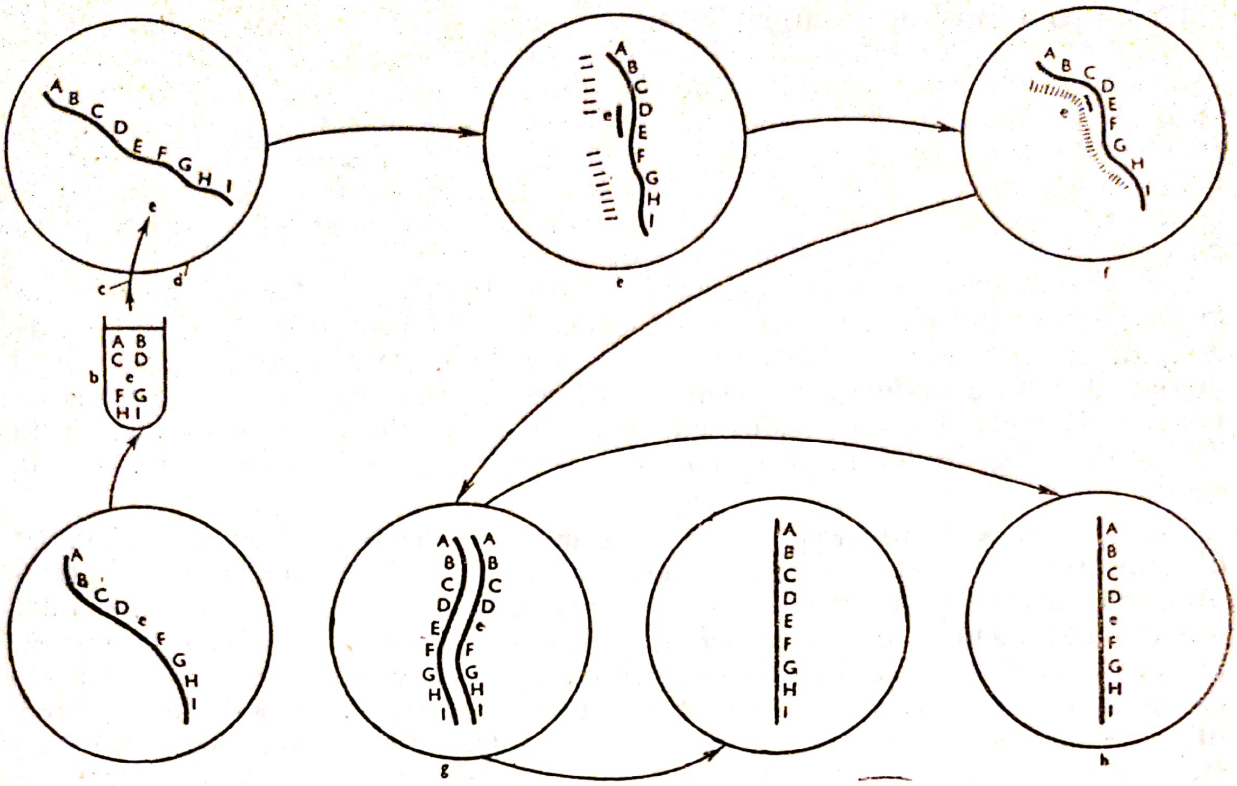


Fig. 26. Mecanismul de transformare a bacteriilor prin autoreproducere sub acțiunea moleculelor specifice de ADN introduse în celulă:

a — celula tulpinii *e* cu genotipul *ABCDeFGHI*; *b* — molecule de ADN *in vitro*, izolate din cromosomii tulpinii *e*; *c* — introducerea moleculelor de ADN în celula unei alte tulpini *E* care are genotipul *ABCDEFGHI*; *d* — celula tulpinii *E* cu moleculele de ADN care conțin locusul *e* (diploidie parțială); *e* — atragerea omologilor la formarea cromosomului bacterian și blocarea locusului *E* cu locusul heterolog *e*; *f* — replicarea filamentului cromosomic; *g* — în cazul unei erori de replicare, gena *e* este inclusă în cromosomul nou, în locul genei proprii *E*, specifice pentru tulpina bacteriană dată; *h* — transformarea parțială a descendentului prin pătrunderea genei *e* în cromosomul bacterian.

(un segment al filamentului de ADN) care pot împiedica desfășurarea normală a procesului de replicare a filamentului propriu de ADN din celula bacteriană dată, deoarece ADN-ul heterolog pătruns în celulă poate înlocui componentele existente, incluzîndu-se în lanțul nou de ADN care se sintetizează. În fig. 26 se vede cum fragmentul de moleculă ADN cu gena *e*, odată ce a pătruns în celulă, poate fi atras mai înaintea predecesorilor săi, și cum, asociindu-se cu locusul *E* din cromosomul bacteriei, acest fragment blochează locusul mai sus menționat, excluzîndu-l din mecanismul-matriță de reproducere. În consecință, cromosomul inițial și cel nou format, care apare alături de primul, nu sînt identici. În cromosomul nou gena *E* este înlocuită cu gena *e*, introdusă în celulă sub forma de molecule libere de ADN. În stadiul de autoreproducere a cromosomului vedem că celula conține două filamente cromosomice. În această scurtă perioadă, celula bacteriană este complet diploidă. Trebuie să se dea o mare atenție acestui mod de existență a celulei bacteriene sub formă diploidă oricît de scurt ar fi. Problema prezintă un interes excepțional, deoarece același fenomen s-a produs și la primele forme unicelulare — strămoșii animalelor și plantelor de astăzi. Acest stadiu de diploidie a celulei a fixat ca într-o sămînță evoluția viitoare a organismelor, deoarece diploidia la animale și la plante este forma principală de existență a celulelor și organismelor.

Scanned with OKEN Scanner

La bacterii, stadiul de diploidie este însă de obicei de scurtă durată. După ce s-a terminat duplicarea, forțele de atracție omologă își încetează acțiunea. Intervine o repulsie a cromosomilor, ceea ce provoacă separarea cromosomului vechi de cel nou, iar celulele trec în starea haploidă obișnuită a existenței lor. În urma acestei separări, o celulă conține însușirile vechi (genele *ABCDEFGHI*), iar a doua — însușirile noi (genele *ABCDeFGHI*). Molecula de ADN care reprezintă locusul *e* s-a instalat statornic în cromosomul celulei noi și se va transmite acum tuturor descendenților săi.

Avem în față un exemplu de transformare dirijată a structurii chimice a cromosomului în procesul de autoreproducere. Această transformare apare și este dirijată de molecula de ADN introdusă în celulă. Mecanismul transformării dirijate a cromosomului în procesul de autoreproducere constituie baza transformării la bacterii. Esența acestui fenomen constă în înlocuirea locusului propriu din cromosomul bacterian cu o moleculă de ADN, introdusă în stare liberă în celulă.

Vom examina acum mecanismul transducției la bacterii. Studiul amănunțit al transducției a arătat că și acest proces este legat de mecanismul de autoreproducere a cromosomilor și că în acest caz apar unele raporturi speciale între cromosomul vechi al bacteriei și fragmentul de material cromosomic heterolog, pe care îl introduce fagul în această celulă. Aceste fenomene prezintă un interes excepțional, ele nefiind caracteristice numai bacteriilor. Raporturile speciale dintre porțiuni omologe ale cromosomilor asigură mecanismul de transducție și, în afară de aceasta, pun în evidență principalele caracteristici viitoare ale mecanismului eredității la toate formele vii care apar în procesul evoluției. Are loc fenomenul de *crossing-over* *. În ce constă acest fenomen și în ce mod asigură el transducția la bacterii?

Procesul de transducție sau de *crossing-over* este înfățișat în fig. 27. O particulă de fag pătrunde în celula bacteriei *a*. După cîtva timp, cînd fagul se înmulțește în celula bacteriei-gazdă, se produce scindarea cromosomului care conține genele *abcdefghi* în fragmente (sectoare) separate, cu alt conținut genic (*b*). Diferiții fagi înglobează fragmente diferite din cromosomul bacterian (*c*). Se produce liza celulei bacteriene, iar fagii puși în libertate infectează noi celule (*d*). Să urmărim soarta celulei străine cu genele *cde* (*d*). O asemenea celulă este un diploid parțial deoarece în ea trei locusuri — *Cc*, *Dd* și *Ee* — sînt duble. Vedem că aceste locusuri există, pe de o parte, în cromosomul celulei bacteriei-gazdă, iar pe de altă parte în fragmentul adus de fag din celula străină. Datorită acțiunii forțelor de atracție omologă, cromosomul și fragmentul se apropie și se produce replicarea lor (*e*). În acest timp unul din fragmente se încrucișează în două puncte cu unul din cromosomi (*f*). În fiecare din aceste puncte are loc o rupere a filamentului fragmentului și cromosomului după care locurile de rupere se unesc. Această unire nu respectă însă ordinea veche. Locurile de rupere ale cromosomului se unesc cu locurile de rupere ale fragmentului și invers. În consecință porțiunea din mijloc a fragmentului rămîne inclusă în cromosom, iar porțiunea omologă din interiorul cromosomului înlocuiește partea corespunzătoare a fragmentului (fig. 27, *h*). Combinarea cromosomului și a fragmentului este înfățișată în fig. 27 *g*. În fig. 28 este reprezentat mecanismul unui asemenea dublu *crossing-over* (încrucișarea se produce simultan în două puncte). În urma dublului *crossing-over* se formează un cromosom și un fragment încrucișați reciproc (fig. 27).

* *Crossing-over* = încrucișare reciprocă (în l. engleză). — *N.R.*

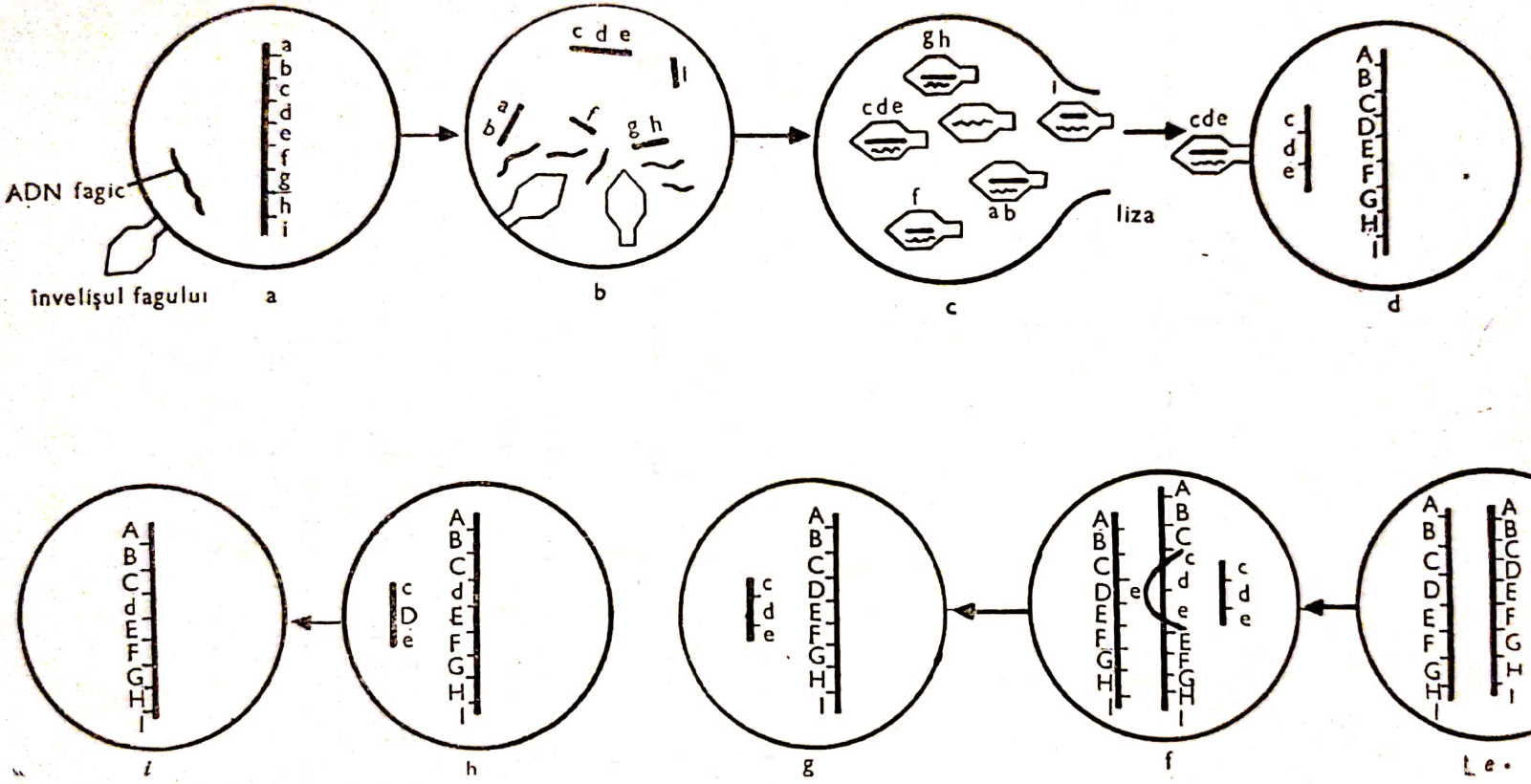


Fig. 27. Transducţia la bacterii I:

a — celula bacteriei cu genotipul *abcdefghi*, în care a pătruns filamentul de ADN al fagului; *b* — divizarea cromosomului bacteriei şi multiplicarea fagului; *c* — înglobarea de către fagi a cîte unui fragment din cromosomul bacterian, liza celulei bacteriene; *d* — pătrunderea complexului fag-particulă de cromosom; *e* — autoreproducerea cromosomului propriu în celula bacteriană şi a fragmentului cromosomic din celula heterologă, introdus odată cu fagul; *f* — dubla încrucişare dintre cromosom şi fragmentul omolog al cromosomului heterolog în punctele dintre *cd* şi *de*; *g* — celula cu cromosomul şi fragmentul nemodificat; *h* — celula cu cromosomul şi fragmentul de cromosom heterolog încrucişaţi reciproc; *i* — celula ai cărei cromosomi au dobîndit gena *d* sub influenţa materialului genetic din fragmentul de cromosom heterolog introdus odată cu fagul (transducţie).

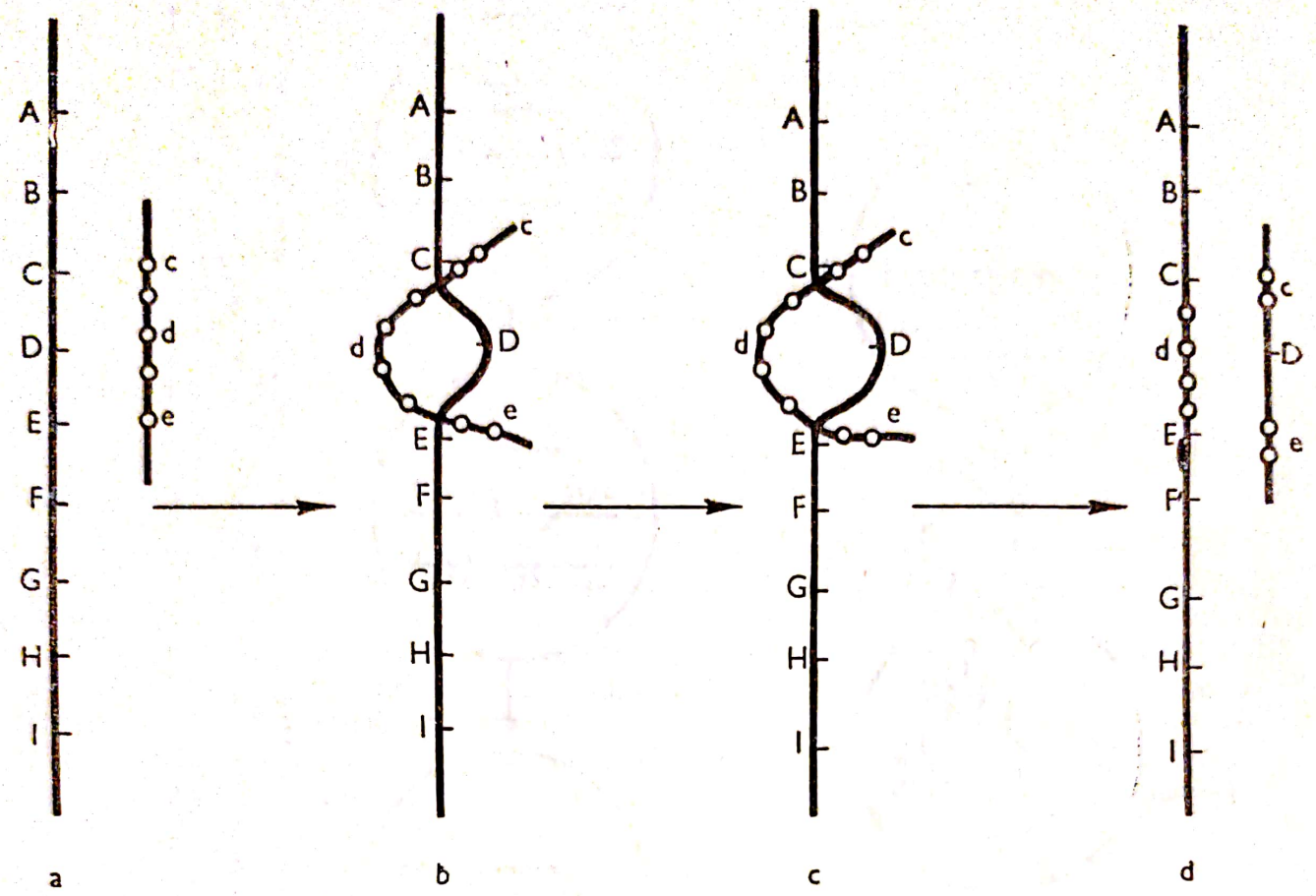


Fig. 28. *Crossing-over* dublu între cromosomul celulei bacteriene şi fragmentul cromosomic introdus de fag prin transducţie:

a — celulă parţial diploidă avînd un cromosom propriu şi un fragment heterolog introdus de fag; *b* — intersectarea în două puncte între cromosomul propriu şi fragmentul heterolog; *c* — ruperi în punctele omologe, cromosomul şi fragmentul din fiecare celulă se rup în trei porţiuni; *d* — reunirea locurilor de rupere într-o ordine nouă. Ca rezultat, porţiunea mijlocie a fragmentului cu locusul *d* pătrunde în cromosom, iar porţiunea omologă a cromosomului (locusul *D*) intră în fragment; se formează cromosomul şi fragmentul încrucişaţi reciproc.

Ulterior fragmentul dispare şi rămîne celula cu cromosomul încrucişat. În această celulă, în locul genei iniţiale *D* cromosomul are gena *d*, introdusă în celulă de fag prin transducţie (fig. 27 *i*).

Recombinarea materialului genetic între cromosom şi fragmentul introdus în celulă de către fag se poate produce în unele cazuri printr-un *crossing-over* (încrucişare reciprocă) simplu şi nu dublu, şi anume prin schimbul dintre părţile terminale ale fragmentului şi cromosomului. În fig. 29 se vede că fragmentul introdus de fag este terminal; el conţine locusurile *ab*. În acest caz, după replicarea cromosomului bacterian propriu, cît şi a fragmentului heterolog introdus de fag, unul din cromosomi şi unul din fragmente îşi schimbă între ei porţiunile terminale, apoi una din celulele-fiice primeşte cromosomul şi fragmentul încrucişaţi reciproc. După pierderea fragmentului, cromosomul celulei primeşte o parte a materialului genetic din fragmentul de cromosom heterolog, care la timpul său a fost introdus odată cu fagul în celula parentală. În acest caz, mecanismul de transformare se bazează pe realizarea unui *crossing-over* simplu, care duce la schimbul de porţiuni terminale între cromosom şi fragment.

Am analizat mecanismele de transformare şi transducţie la bacterii. În primul caz, ne-am ocupat de modificarea dirijată a structurii chimice a cromosomului

Scanned with OKEN Scanner

în procesul de replicare. În al doilea caz, am cercetat modificarea dirijată a structurii chimice a cromosomilor prin *crossing-over* între cromosomul bacteriei și fragmentul de cromosom străin, nou introdus. Este clar că alegînd o anumită tulpină bacteriană putem folosi fagul pentru introducerea genelor care ne sînt necesare într-o altă tulpină, pe care astfel o transformăm.

La bacterii s-a mai descoperit o cale eficientă de realizare a recombinărilor de material genetic din celule diferite. S-a constatat că la acestea are loc un proces asemănător cu cel sexual, propriu formelor superioare, și anume fenomenul de conjugare, cînd celulele unor specii bacteriene se unesc cîte două printr-o punte citoplasmatică specială. Tabloul unei asemenea conjugări a fost descris în mod amănunțit în urma unor cercetări efectuate cu microscopul electronic (fig. 30).

O trăsătură caracteristică a conjugării bacteriilor este aceea că puntea citoplasmatică înlesnește trecerea cromosomului dintr-o celulă în alta. Nu trece însă cromosomul întreg, ci numai o parte a sa (un fragment). Aceasta se datorește faptului că la trecerea dintr-o celulă în alta cromosomul se rupe, capătul lui anterior care trece prin puntea citoplasmatică se desprinde și intră în celula

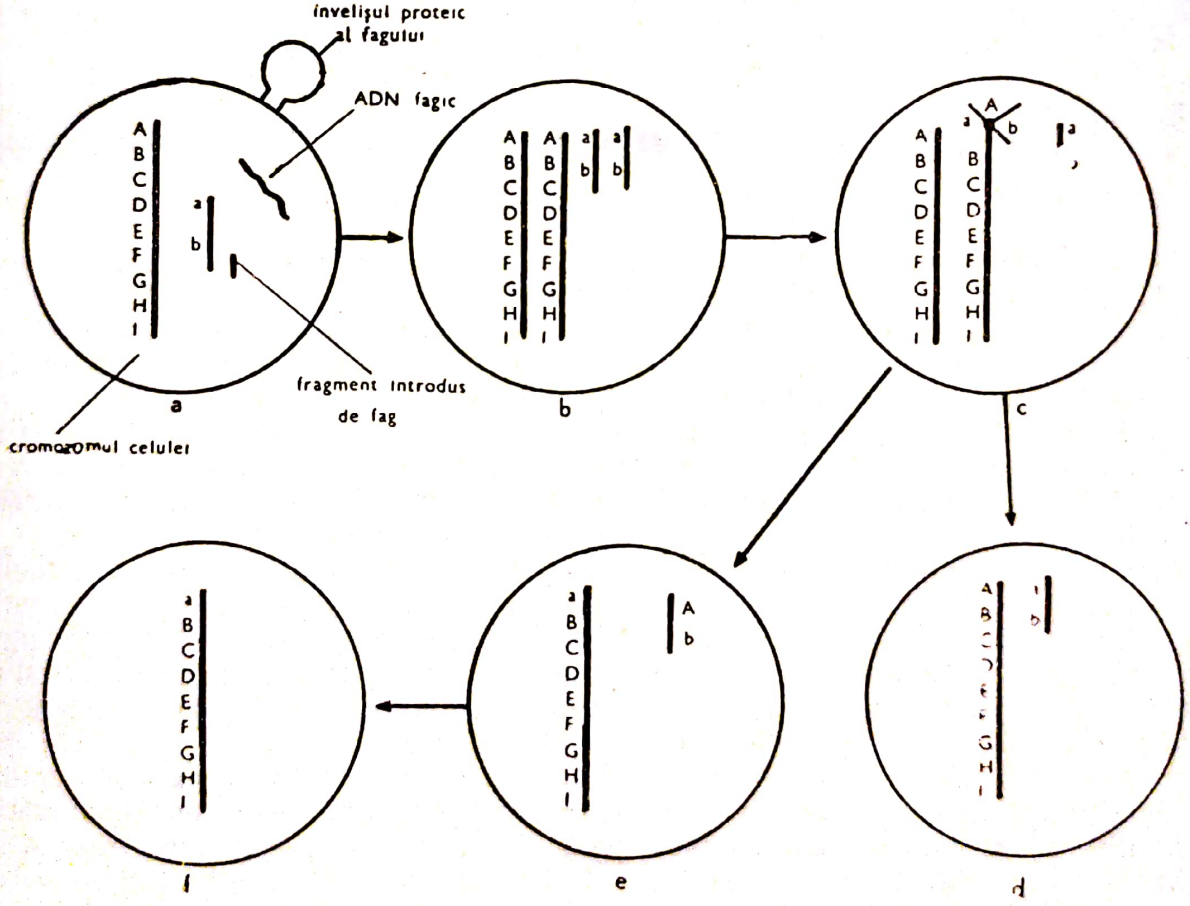


Fig. 29. Transducția la bacterii II:
a — pătrunderea în celula bacteriei, care conține un cromosom cu genotipul *ABCDEFGHI*, a unui fag ce poartă un fragment terminal al unui cromosom provenit dintr-o altă celulă cu locusurile *ab*; *b* — autoreproducerea cromosomului propriu din celula bacteriei și a fragmentului introdus o dată cu fagul: *c* — *crossing-over* simplu între comosom și fragment în punctul dintre locusurile *ab*; *d* — celula cu cromosomul și fragmentul neîncrucișați; *e* — celula cu cromosomul și fragmentul încrucișați; *f* — celula cu gena *a*, dobîndită sub influența materialului genetic din fragmentul cromosomului heterolog introdus de fag; *crossing-over* simplu.

Scanned with OKEN Scanner

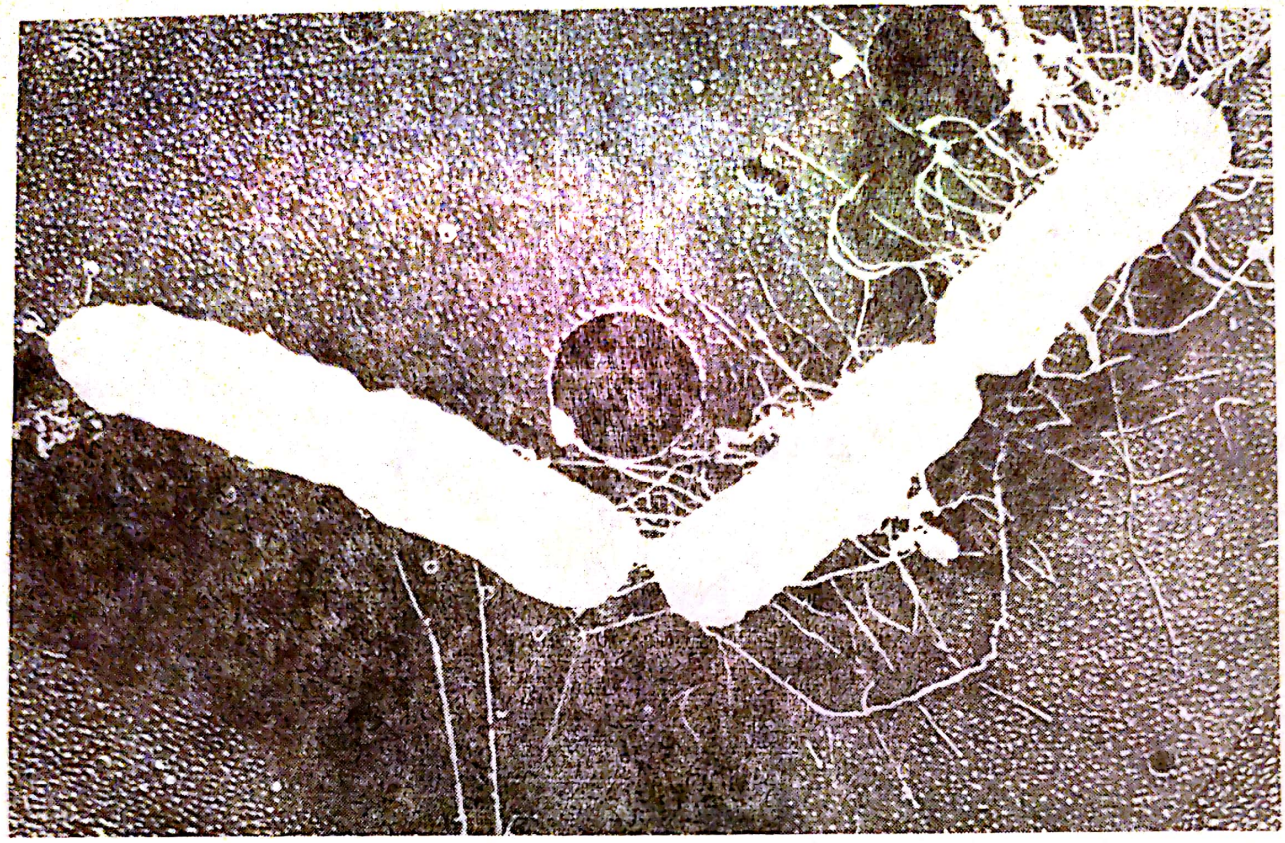


Fig. 30. Conjugarea bacteriilor studiată la microscopul electronic.

străină. La o anumită tulpină de colibacil aceste fragmente se formează, în general, în porțiunea terminală a cromosomului, notată cu literele *O—R* (fig. 31). Acest sector, ca și celelalte sectoare ale cromosomului colibacilului, are o structură organizată, în care genele sînt așezate liniar. În procesul de conjugare, în celula heterologă intră întotdeauna mai întîi capătul *O* (locusul conducător). După locusul *O*, pe măsură ce în celula heterologă intră diferite părți de cromosom, pătrund și celelalte blocuri de gene. Cromosomul se rupe fie în porțiunea *R*, fie într-un alt loc, și în celula heterologă pătrund, în diverse cazuri, diferite fragmente cu anumite garnituri de locusuri din porțiunea *O—R*.

Fragmentul care a pătruns în timpul conjugării bacteriene în celula străină creează o diploidie parțială. Prin încrucișare reciprocă, genele din fragmente pot trece în cromosom, creînd un nou genotip recombinat al celulei bacteriene.

Trebuie menționat, de asemenea, că atît în transducție, cît și în conjugare, recombinarea materialului genetic din celule bacteriene diferite nu se limitează la mecanismul de încrucișare reciprocă. Sub influența diploidiei parțiale, înlocuirea materialului propriu din cromosom cu un material nou, care reproduce materialul genetic al fragmentului, se poate realiza și sub acțiunea modificării dirijate a structurii cromosomului prin modificarea proceselor de replicare. Acest proces este prezentat în fig. 32. Datorită faptului că în timpul autoreproducerii unul din sectoarele (porțiunea *f*) fragmentului se apropie de locusul omolog al cromosomului, el alterează aci procesele de sinteză ale acestui locus în cromosomul celulei-fiice. În consecință, cromosomul celulei-fiice repetă prin structura sa caracteristicile tuturor locusurilor celulei parentale, cu excepția unuia singur. Această porțiune din cromosomul nou se sintetizează sub acțiunea locusului fragmentului care are rol de matriță. În consecință, în cromosomul

Scanned with OKEN Scanner

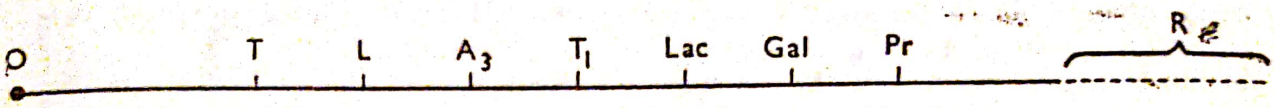


Fig. 31. Un sector din cromosomul unei anumite tulpini de colibacil:
O—R — regiunea în care se formează, în majoritatea cazurilor, fragmentele care trec în celula heterologă în timpul conjugării bacteriilor; *O* — locusul conducător; *T* — capacitatea de a sintetiza treonina; *L* — idem pentru leucină; A_3 — rezistența la azidă; T_1 — rezistența la fag; *lac* — capacitatea de a folosi lactoza; *Gal* — idem pentru galactoză; *Pr* — locusul de pătrundere a profagului în cazul fenomenului de lizogenie; *R* — sectoarele în care se produc în majoritatea cazurilor rupturile în cromosom cu prilejul conjugării celulelor bacteriene.

celulei-fiice, datorită modificării intervenite în procesele de autoreproducere, apare o modificare echivalentă recombinării de material genetic între cromosomul celulei și fragmentul introdus în ea din celula străină.

În aceste forme primitive de reunire a eredității unor indivizi bacterieni diferiți, cu un specific pronunțat, găsim prototipul viitorului sistem ereditar unic al speciei, sistem care ulterior se realizează complet la formele superioare, ca urmare a înmulțirii sexuate. Unitatea sistemului ereditar al speciei constituie baza unor transformări evolutive rapide și intense. În aceste condiții, procesele de evoluție se desfășoară pornind de la un număr relativ mic de indivizi aparținînd diferitelor specii de plante și animale.

La bacterii, modificarea lor rapidă sub acțiunea condițiilor de mediu schimbate se produce datorită faptului că fiecare varietate a acestor specii are un număr uriaș de indivizi. Totodată, acești indivizi au un caracter haploid. În uriașele populații bacteriene apar într-o proporție sau alta tot felul de mutații. În faza haploidă orice mutație modifică proprietățile celulei. Aici nu intervine acea interacțiune complexă a alelelor care se constată la formele diploide, despre

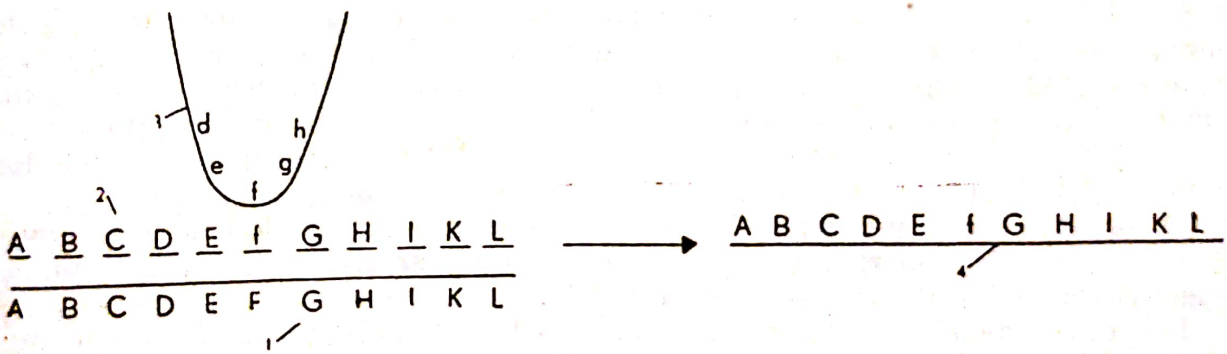


Fig. 32. Recombinarea ca urmare a modificărilor dirijate în autoreproducerea filamentului cromosomic:
1 — filament matriță a cărui structură se dublează; *2* — cromosomul autoreprodus. *3* — Modificările dirijate ale replicării în urma cărora nu se sintetizează locusul *F* corespunzător filamentului propriu al cromosomului, ci porțiunea *f*, după tipul omologului care s-a apropiat; *4* — noul filament cromosomic se deosebește de matriță prin aceea că în el porțiunea *F* a fost înlocuită cu porțiunea *f*.

care vom vorbi mai tîrziu. Procesul de apariție a mutațiilor este ajutat de procesele de modificare a eredității pe calea recombinării care se realizează prin transformare, transducție și conjugare.

În consecință, miliardele de indivizi aparținînd oricărei specii bacteriene reacționează cu mare sensibilitate la toate modificările mediului, restructurîndu-și proprietățile lor ereditare pe calea selecției indivizilor utili, care s-au adaptat și care au căpătat trăsături noi în urma mutațiilor și recombinărilor.

Analiza noastră privind reproducerea cromosomilor, natura fenomenelor de transformare, transducție și conjugare la bacterii se apropie de sfîrșit. Am văzut

Scanned with OKEN Scanner

că fenomenul de reproducere a cromosomilor, atît de uimitor și de însemnat, se realizează cu ajutorul unui lanț complex de transformări intercelulare. Acest fenomen se bazează pe sinteza citoplasmatică a precursorilor ADN-ului, pe tendința lor spre cromosom, trecînd prin cîmpul forțelor de atracție omologă, pe repartiția ordonată a acestor substanțe exact pe locurile din fața omologilor și, în sfîrșit, pe acțiunea enzimelor care leagă acești precursori într-un singur lanț lung, reprezentînd baza genetică în structura cromosomului.

Ne aflăm în fața unui complex organizat de fenomene biologice moleculare care se produc în celulă pentru realizarea procesului fundamental — acela prin care se transmite celulei-fiice totalitatea informației ereditare înscrise în moleculele de ADN.

Studiul transformării, transducției și conjugării la bacterii a dezvăluit bazele genetice ale acestor fenomene remarcabile care duc la transformarea eredității lor. Prin recombinări, aceste fenomene permit reunirea materialului genetic al diferitelor celule bacteriene.

Dar actuala fază a studiului eredității bacteriilor și virusurilor nu se limitează la înțelegerea organizării supramoleculare și biologice a materialului genetic. Putem examina aceste probleme în lumina structurii chimice a moleculelor ereditare. ADN-ul constituie substratul universal al organizării moleculare a eredității la om, animale, plante, microorganisme și virusuri.

În ultimii ani metodele fizice și chimice au relevat natura atomică și moleculară a ADN-ului. Aceasta a constituit o etapă nouă în cunoștințele noastre despre ereditatea organismelor și a sugerat noi metode de dirijare a eredității.

Care este structura chimică a moleculelor de ADN și ARN? În ce măsură cunoașterea organizării moleculare a eredității ne ajută să înțelegem bazele fizice și chimice ale reproducerii materialului genetic, esența mutațiilor și recombinărilor? În ce constă esența unui fenomen atît de complex cum este înregistrarea informației ereditare în structurile moleculare? Cum se cristalizează rezultatele evoluției biologice a organismelor în moleculele acizilor nucleici, care înregistrează și transmit informația ereditară din generație în generație?

În ce mod informația înscrisă în moleculele de ADN la nivel molecular trimite semnale în citoplasmă și programează sinteza proteinelor specifice?

Fiecare din aceste probleme este legată de o gamă întreagă de fenomene uimitoare care se desfășoară în celulă la nivel molecular și care constituie fundamentul fizico-chimic al fenomenelor vitale.

Dispunem de răspunsuri principiale la toate întrebările formulate mai sus. Totuși, înainte de a da aceste răspunsuri, trebuie să coborîm în microcosmul structurilor atomice și moleculare de ADN și să înțelegem modul în care aceste structuri se sintetizează din nou cu prilejul înmulțirii celulelor vii.

BIBLIOGRAFIE

1. R. V. Hesin, *Mehanizm biologhicescogo sinteza nucleinovîh chislot*, în „Jurn. Vsesoiuz. himicescogo obscestva", VI, 3, 254, 1961.
2. A. S. Spirin, *Himia nucleinovîh chislot*, ANC. RDC în „Jurn. Vsesoiuz himii", o-va, VI, 3, 260, 1961.
3. J. A. Medvdev, *Vosproizvedenie perenos, informații, pri sinteze biologhiceschih macromolecul*, în „Jurn. Vsesoiuz himii" o-va, VI, 3, 268, 1961.
4. A. Korenberg, *Biologic synthesis of dezoxyribonucleic acid*, „Science", 131, no. 3412, 1960.
5. C. Levinthal and C. A. Thomas, *The molecular basis of genetic recombination in Phage*, în „A symposium on the chemical basis of heredity", The Johns Hopkins press, 1957.

Scanned with OKEN Scanner

5. Structura chimică a moleculelor de ADN. Autoreproducerea lor și principiile de înregistrare a informației genetice

Studiile din ultimele două decenii au dovedit în mod neîndoielnic că acizii nucleici joacă un rol considerabil în fenomene biologice atît de importante ca ereditatea și biosinteza proteinelor, specifice pentru fiecare organism. În consecință, fenomenele biologice cele mai însemnate nu pot avea loc fără participarea acizilor nucleici la procesele de sinteză ce au loc în celulă.

Este cert că fenomenul eredității reprezintă un proces complex care cuprinde întreaga celulă. Totuși înregistrarea propriu-zisă a informației genetice se realizează în structura acizilor nucleici, ceea ce situează acești acizi în centrul analizei problemei eredității. Enigma înregistrării, păstrării și transmiterii informației ereditare din cromosomi în citoplasmă trebuie căutată în structura chimică a acizilor nucleici.

S-ar putea spune că celula este saturată cu acizi nucleici. Însăși repartiția lor arată că rolul biologic al acidului dezoxiribonucleic (ADN) diferă de rolul acidului ribonucleic (ARN).

ADN-ul are o localizare strictă: el este legat de cromosomii nucleului celular. Pe de altă parte, ARN-ul se găsește în cele mai felurite structuri citoplasmatice; el este întîlnit în mitocondrii, în micile granulații ale reticulului endoplasmatic care au fost denumite ribosomi, deoarece conțin ARN, precum și în alte componente citoplasmatice. În nucleu, ARN-ul a fost pus în evidență în nucleol și în cromosomi.

Ambele tipuri de acizi nucleici se află în strînsă interrelație. Această interrelație are o însemnătate excepțională, deoarece a fost descoperit un ARN care poartă în structura sa unele semnale de la informația înregistrată în ADN. El constituie un „mesager" pe care ADN-ul îl transmite în citoplasmă, unde programează sinteza proteinelor. În ce constă deosebirea dintre moleculele de ADN și ARN și în ce constă asemănarea dintre ele?

Analiza moleculelor de ADN a arătat că, în general, ele au o compoziție chimică asemănătoare, indiferent dacă ADN-ul respectiv a fost izolat din cromosomi ai plantelor, animalelor sau microorganismelor. După cum s-a spus mai sus, în compoziția ADN-ului intră molecule de acid fosforic, un zahar (dezoxiriboza) și patru baze azotate: adenina, guanina, citozina și timina.

Compoziția chimică a componentelor ARN-ului în celulele de cele mai diferite proveniențe este, de asemenea, foarte complexă. Compoziția ARN-ului diferă de aceea a ADN-ului prin două componente. Molecula de ARN conține un alt zahar, și anume riboza, în locul dezoxiribozei, care este proprie moleculelor de ADN. A doua deosebire se referă la una dintre bazele pirimidinice. Molecula de ARN conține uracil în loc de timină, proprie moleculelor de ADN.

Asemănările și deosebirile dintre moleculele de ADN și ARN figurează în tabelul 1, unde elementele prin care compoziția moleculelor ARN-ului se deosebește de cea a moleculelor de ADN sînt încadrate în chenar.

Așadar, „cărămizile" elementare ale acizilor nucleici sînt cinci baze azotate, două tipuri de molecule de zahar și un tip de acid fosforic *. Această compoziție este asemănătoare la aproape toate moleculele acizilor nucleici ai oricărei celule

---

* Vezi și nota de la pag. 34.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1

COMPOZIȚIA CHIMICĂ A MOLECULELOR DE ADN ȘI ARN

	Acidul dezoxiribonucleic (ADN)	Acidul ribonucleic (ARN)
Baze purinice	Adenină Guanină	Adenină Guanină
Baze pirimidinice	Citozină	Citozină
	Timină	Uracil
Acizi	Acid fosforic	Acid fosforic
Zahar	Dezoxiriboză	Riboză

indiferent dacă ea aparține unui animal, unei plante sau unui microorganism ori reprezintă un virus.

Este necesar să examinăm mai atent compoziția și structura acestor compuși deosebiți, deoarece proprietățile biologice ale moleculelor lor rezultă din particularitățile lor structurale. În afară de aceasta, micile deosebiri care există în compoziția chimică a moleculelor de ADN și ARN îngăduie înțelegerea interacțiunii lor în celulă. Totodată, tocmai aceste mici deosebiri de compoziție constituie baza deosebirilor esențiale din structura lor chimică și a participării lor atît de diferențiate la procesele biologice pe care se întemeiază viața celulei.

Vom examina în continuare structura chimică a celor patru baze azotate care intră în compoziția moleculelor de ADN. Deosebirea existentă în structura chimică a acestor baze și a zaharurilor care intră în compoziția ADN-ului și ARN-ului este relevată în fig. 33.

Combinarea zaharului cu baza azotată are ca urmare formarea așa-numitelor nucleozide. Avînd în vedere numărul bazelor azotate, trebuie să existe cîte patru asemenea nucleozide, atît pentru ADN, cît și pentru ARN.

Totuși „cărămida" structurală de bază a acizilor nucleici o constituie unitățile alcătuite din toate cele trei molecule, și anume din baza azotată, zahar și acid fosforic. Acești compuși au căpătat denumirea de nucleotide; ele sînt esteri fosforici ai nucleozidelor. În fig. 33 este prezentată structura unui nucleotid care intră în compoziția moleculelor de ADN, și anume a acidului adenilic.

În compoziția ambilor acizi nucleici intră cîte patru nucleotide diferite. Macromoleculele acizilor nucleici sînt polimeri alcătuiți dintr-un număr foarte mare din aceste patru nucleotide care intră în compoziția lor în diferite combinații. Caracteristica nucleotidelor este dată în tabelul 2.

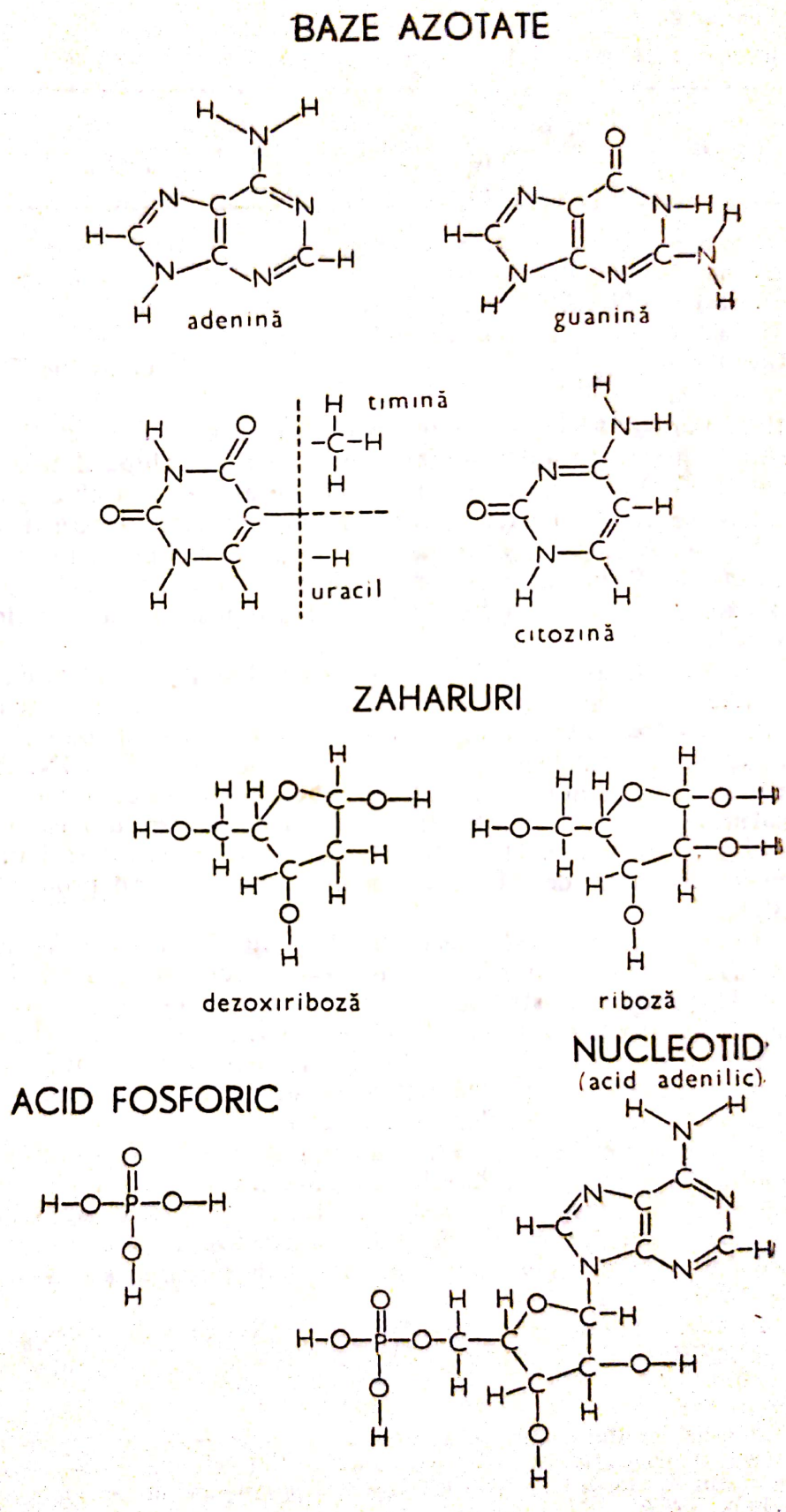
Masa moleculară * a acizilor nucleici este foarte mare. Masa cea mai mare o au moleculele de ADN care constituie materialul genetic din cromosomi. Pînă nu de mult s-a considerat că aceste molecule au o masă moleculară de 8 milioane. Aceasta înseamnă că moleculele respective se compun din 15—30 000 de nucleo-

* Este vorba de masa relativă. Pentru comparație se poate aminti că apa are masa moleculară 18, glucoza 180, hemoglobina 68 000 și fibrinogenul 330 000. Masa moleculară relativă este masa absolută $\times$ N. (N = numărul lui Avogadro = $6{,}0232 \cdot 10^{23}$). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 33. Moleculele care intră în compoziția acizilor nucleici.

Baze azotate — adenina, guanina, timina, citozina și uracilul. Primele patru intră în compoziția ADN-ului; în molecula de ARN timina este înlocuită cu uracilul. Acestea din urmă se deosebesc prin prezența radicalului metil ($-CH_3$) în timină și a hidrogenului (H) în uracil. Zaharuri — dezoxiriboza care intră în compoziția moleculelor de ADN și riboza din molecula de ARN. Molecula de acid fosforic face parte din scheletul ambelor tipuri de acizi nucleici. Nucleotidul — acidul adenilic din molecula de ADN.



Tabelul 2

NUCLEOTIDELE CARE INTRĂ ÎN COMPOZIȚIA MOLECULELOR DE ADN ȘI ARN

Baze	Nucleotide (dezoxiribonucleotide) care intră în compoziția ADN-ului	Nucleotide (ribonucleotide) care intră în compoziția ARN-ului	Notarea prescurtată a nucleotidelor
Adenină	Acid dezoxiadenilic	Acid adenilic	A
Guanină	Acid dezoxiguanilic	Acid guanilic	G
Citozină	Acid dezoxicitidilic	Acid citidilic	C
Timină	Acid dezoxitimidilic	—	T
Uracil	—	Acid uridilic	U

tide. Pentru ARN, masa moleculară este de 1,2—2 milioane. Aceste molecule sînt formate din 4 000—6 000 de nucleotide. După datele recente, masa moleculară a ADN-ului este de 100—200 de milioane și chiar mai mult. Macromoleculele de acizi nucleici reprezintă lungi lanțuri în care nucleotidele sînt legate între ele. Această legătură este realizată de acidul fosforic care, inclus între zaharuri, leagă nucleotidele prin hidroxilul (gruparea OH) din poziția 3 a dezoxiribozei unui nucleotid, și hidroxilul din poziția 5 a dezoxiribozei nucleotidului următor*.

Pînă nu de mult se părea că acestea sînt singurele aspecte ale structurii chimice a moleculelor de ADN. Studierea eficienței biologice a moleculelor de ADN arată însă că există o trăsătură specifică deosebită care nu poate fi sesizată la descrierea structurii polinucleotidice simple a filamentului de ADN. Astfel, transformarea este provocată numai în cazul cînd ADN-ul izolat din celule are proprietățile naturale, native și în special dacă rămîne polimer cu masă moleculară de ordinul a cîtorva milioane. Dacă diferite cauze provoacă alterări în structura unor asemenea molecule de ADN, aceste molecule își pierd proprietățile biologice specifice.

În ce constau aceste particularități ale ADN-ului? Această problemă a fost rezolvată prin studiile biochimice asupra acizilor nucleici și cu ajutorul analizei roentgenologice a structurii lor prin care a devenit posibilă dezvăluirea configurației atomice a moleculelor de ADN. Aceste cercetări recente au descoperit natura unor particularități chimice ale compoziției moleculelor de ADN care păreau înainte vreme enigmatice și au dat posibilitatea de a se crea modelul structurii macromoleculare a acestora.

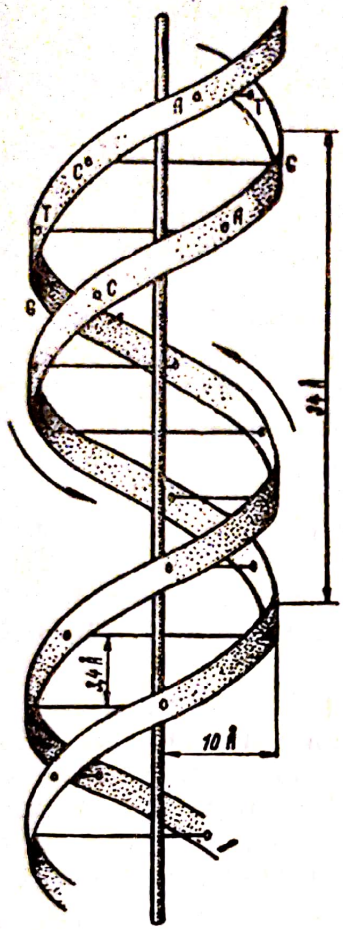
Particularitățile enigmatice ale compoziției ADN-ului constau în prezența unei cuplări ciudate a bazelor în perechi: legătura reciprocă dintre două baze determinante, una purinică și cealaltă pirimidinică. Această cuplare în perechi face ca în orice moleculă de ADN cantitatea de adenină să fie egală cu cantitatea de timină (A=T), iar cantitatea de guanină să fie egală cu cantitatea de citozină (G = C).

Analiza compoziției nucleotidice a diferitelor organisme a arătat că această compoziție poate varia numai în ce privește mărimea raportului A + T/G + C.

---

* Glucidele sînt polialcooli ai aldehidelor sau cetonelor. Prin ciclizare o moleculă de monozaharid are numai funcții alcoolice (grupări—OH). Dezoxiriboza ciclizată are trei funcții alcoolice, pe atomii de carbon 1, 3 și 5. Ciclizarea se face între atomii de carbon 1 și 4 printr-un atom de oxigen, — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner



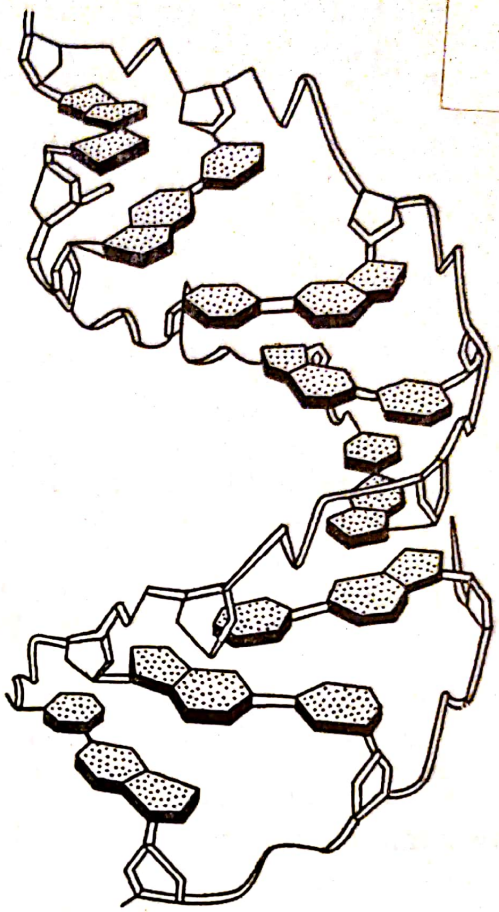


Fig. 34 Fig. 35

Fig. 34. Schema structurii moleculei de ADN formată din două lanţuri de nucleotide, răsucite în formă de spirală.

Scheletul format din acid fosforic şi dezoxiriboză este situat spre exterior şi are forma unei benzi spiralate. Legăturile dintre cele două lanţuri polinucleotidice sînt formate de perechi de baze. Distanţa ocupată de o pereche de baze este de 3,4 Å; distanţa de la axul moleculei pînă la periferie e de 10 Å; pasul elicei (vezi săgeata), format din 10 perechi de baze, este de 34 Å; *A* — adenină; *C* — citozină; *T* — timină; *G* — guanină.

Fig. 35. Modelul structural al ADN-ului compus din două lanţuri ce formează o spirală dublă în jurul unui ax central.

Moleculele de glucide (pentoze) sînt pentagoanele albe, cu linie dublă, iar acidul fosforic — curburile liniei duble care leagă moleculele glucidice; fiecare moleculă de glucid este legată de o bază (pentagonul sau hexagonul punctat); bazele sînt legate de cele opuse situate la acelaşi nivel prin punţi de hidrogen.

Astfel, la om acest raport este de 0,66, la grîu — 0,94, la algele verzi unicelulare — 1,76, la bacilul tuberculozei — 2,08, iar la actinomicete, printre care există producătoare ale unor antibiotice atît de importante ca streptomicina şi altele, este de 2,73.

Aceste date au dovedit existenţa unei legături obligatorii între adenină şi timină, pe de o parte, şi între guanină şi citozină, pe de altă parte. Ele rămîneau de neînţeles atunci cînd erau privite prin prisma teoriei care considera că molecula de ADN constituie un polinucleotid simplu. Atîta timp cît s-a considerat că molecula de ADN este compusă dintr-un singur lanţ polinucleotidic nu s-a putut înţelege cuplarea pară dintre adenină şi timină, precum şi dintre guanină şi citozină.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste interrelaţii de cuplare în perechi a bazelor au fost lămurite atunci cînd analiza roentgenologică a structurii a arătat că moleculele de ADN sînt formate din două lanţuri paralele de nucleotide, răsucite în formă de spirală în jurul unui ax comun * (fig. 34).

Fiecare dintre aceste două lanţuri reprezintă un polinucleotid în care fiecare verigă (nucleotid) ocupă în spirala lui o distanţă de 3,4 Å. Unghiul dintre nucleotidele vecine din acelaşi lanţ este de 36°, astfel încît rotirea totală de 360° se realizează la fiecare 10 nucleotide din lanţ. Aceasta arată că pasul elicei în moleculă este de 34 Å. Diametrul spiralei este de 20 Å.

Structura acestei molecule dublu spiralate este foarte caracteristică: lanţurile de polinucleotide sînt repartizate în aşa fel încît zaharul şi grupele fosforice sînt situate la periferia moleculelor, iar bazele în interior legînd două lanţuri într-o singură moleculă dublă (fig. 35). În lumina acestui model stereochimic, care dezvăluie particularităţile structurii moleculelor de ADN, a putut fi pe deplin lămurită problema, pînă atunci neelucidată, a cuplării obligatorii a unor baze, ca de exemplu a adeninei şi timinei, pe de o parte, şi a guaninei şi citozinei, pe de altă parte. S-a constatat că aceste baze sînt aşezate cîte două, una în faţa celeilalte. Ca şi cum ar veni una în întîmpinarea celeilalte, în interiorul unei spirale duble, aceste baze sînt unite prin punţi de hidrogen, slabe din punct de vedere chimic.

Studiind un lanţ polinucleotidic (unul din cele două lanţuri din molecula de ADN), constatăm că ordinea în care se succed bazele poate fi arbitrară. Totuşi succesiunea bazelor într-unul din lanţuri determină în mod complementar ordinea lor în celălalt lanţ al moleculei duble. Această relaţie între componentele a două lanţuri este condiţionată de faptul că adenina unui lanţ trebuie să fie situată în faţa timinei din celălalt lanţ, iar guanina în faţa citozinei (fig. 36).

În acest fel, perechile de baze se completează reciproc sau, cum se spune, sînt complementare. Cuplarea adeninei cu timina şi a guaninei cu citozina pe întreaga lungime a moleculei duble a ADN-ului are ca urmare faptul că molecula de ADN se compune din două lanţuri ce se completează reciproc, adică din două lanţuri complementare.

Dar care anume elemente din molecula de ADN asigură specificul ei biologic? Este esenţial a se lămuri modul în care informaţia genetică este înscrisă în molecula de ADN.

Teoria informaţiei constituie în prezent unul din principalele domenii ale ciberneticii, ştiinţă care se ocupă cu studiul proceselor de comandă şi de transmitere a informaţiei cu ajutorul semnalelor.

Cum se realizează înregistrarea informaţiei ereditare în structurile moleculare de ADN?

Înregistrarea informaţiei este posibilă numai dacă există un anumit cod care reprezintă baza materială a oricărei înregistrări.

Purtătorul elementar al informaţiei a căpătat denumirea de simbol. Totalitatea simbolurilor alcătuieşte un alfabet. Diferitele comunicări se înregistrează cu ajutorul unor combinaţii de simboluri care se numesc grupe de cod sau cuvinte. Un exemplu de înregistrare a informaţiei îl poate constitui rezerva ei înmagazinată în sutele de mii de cuvinte din oricare limbă, fiecare din aceste cuvinte reprezentînd îmbinarea numai a cîtorva litere din alfabet (simboluri).

---

* Dublă spirală coaxială.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

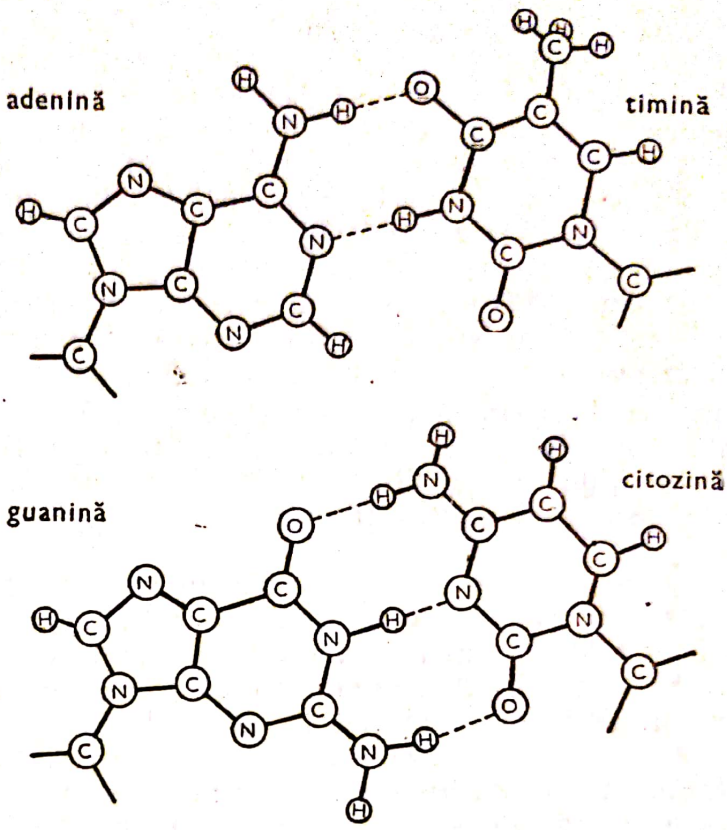


Fig. 36. Perechi de baze în molecula de ADN. Liniile punctate indică punțile de hidrogen

Un alfabet compus numai din două simboluri este alfabetul Morse *, folosit la transmiterea telegramelor, care cuprinde un simbol sub formă de punct și un altul sub formă de linie. Prin alternarea acestor simboluri se obține un număr de grupe de cod, compuse din simboluri, astfel ca în ele, numărul de simboluri care formează diferitele combinații să fie între unu și șase. Aceste grupe pot transmite toate literele din alfabet, 10 cifre și semnele de punctuație. Ca atare, cu cele două simboluri se poate transmite întreaga bogăție lexicală din oricare limbă.

Dacă luăm ca bază a codului molecular al informației genetice macromolecula de ADN, întîlnim aici un cod compus din patru litere. Am văzut mai înainte că diferențele existente în structura moleculelor de ADN sînt legate de deosebirea dintre grupările și pozițiile reciproce ale celor patru nucleotide diferite.

Așadar, în acest caz purtătorul fizic elementar al informației este un nucleotid. Alfabetul simbolurilor din ADN se compune din patru litere: A (adenina), T (timina), G (guanina) — și C (citozina).

Din ce este formată în acest caz grupa de cod sau cuvîntul? Transmiterea informației genetice în celulă este orientată în primul rînd spre dirijarea sintezei proteinelor specifice. „Pietrele de construcție" ale moleculelor sînt formate, la toate proteinele organismului, din aminoacizi. Numărul aminoacizilor care sînt incluși inițial în molecula de proteină este de 20. Așadar, celula trebuie să pri-

* În alfabetul Morse literele sînt formate din 1—5 simboluri. Astfel, cele mai scurte litere sînt: e (punct) și t (linie) și cele mai lungi: e cu accent (2 puncte, linie, 2 puncte) și ñ (2 linii, punct, 2 linii). Cifrele de la 0—9 sînt formate din cîte 5—6 simboluri iar semnele ortografice din cîte 6 simboluri.—*N.R.*

measică din cromosomi informația necesară pentru ca 20 de aminoacizi să participe la sinteza moleculelor de proteină. Prin urmare, codul cromosomilor, compus din patru litere, trebuie să dea 20 de grupe de cod (cuvinte) dacă un aminoacid depinde strict de un singur grup de cod, și un număr mai mare de grupe de cod dacă diferite grupe pot codifica același aminoacid.

Se înțelege deci că purtătorul elementar al informației, adică oricare dintre nucleotide, nu poate transmite în celulă semnalul care determină participarea aminoacidului la sinteza proteinei. Dacă lucrurile ar sta altfel, la sinteza proteinei ar participa numai patru aminoacizi diferiți, după numărul celor patru nucleotide diferite.

Să examinăm posibilitatea formării cuvintelor din două simboluri. În acest caz, fiecare dintre simboluri (nucleotide) poate da patru cuvinte diferite, compuse din cîte două simboluri. Astfel, simbolul A dă următoarele cuvinte: AA, AT, AG și AC. Numărul total de cuvinte rezultat din cele patru simboluri, fiecare cuvînt fiind compus din două litere, este de 16. Acest număr de grupe de cod este insuficient pentru transmiterea informației necesare participării a 20 de aminoacizi la sinteza proteinei. Să încercăm să întocmim un vocabular din trei simboluri. În acest caz fiecare din simbolurile A, T, G, C poate fi prima, a doua sau a treia literă. Prin urmare, numărul total de cuvinte va fi $4.4.4 = 64$. Acest număr este mult mai mare decît cel căutat (numărul de 20) de aceea atenția trebuie concentrată asupra codului din trei litere. Acest cod poate fi folosit în întregime dacă un aminoacid este codificat de cîteva triplete.

După cum am arătat mai înainte, bazele sînt situate de-a lungul polinucleotidului, în ordine liniară. O asemenea repartiție a bazelor îngăduie atît obținerea unui cod care se suprapune (superpozabil), cît și a unui cod care nu se suprapune (nesuperpozabil). Vom analiza deosebirea dintre aceste coduri luînd un exemplu simplu. Să admitem că cuvîntul din cod ATG codifică leucina, iar cuvîntul TGC — triptofanul.

Transmiterea informației în citoplasmă este teoretic posibilă atît în cazul cînd grupele de cod se suprapun, cît și atunci cînd ele nu se suprapun.

Codul superpozabil

Grupa de cod a leucinei

ATGC

Grupa de cod a triptofanului

Codul nesuperpozabil

ATG	TGC
Grupa de cod a leucinei	Grupa de cod a triptofanului

Vedem că teoria codului superpozabil prevede posibilitatea apartenenței acelorași purtători elementari ai informației la cuvinte diferite. Pe de altă parte, teoria codului nesuperpozabil presupune că grupele de cod au o discontinuitate semantică. În primele etape ale elaborării teoriei înregistrării informației genetice în moleculele de ADN a fost adoptat sistemul codului superpozabil. Acest sistem a întîmpinat însă anumite dificultăți.

Astfel, dacă în sistemul cu două grupe de cod superpozabil intervine modificarea chimică a unei baze, aceasta trebuie să modifice, la rîndul ei, participarea la sinteza proteinei a doi aminoacizi dintr-o dată:

ATGC — LT

Mutația T → C

ACGC — VG

Scanned with OKEN Scanner

Vedem că în mutația care a atins baza T, prin înlocuire cu baza C, fostele grupe de cod ATG și TGC s-au transformat dintr-o dată în două noi grupe de cod: ACG și CGC. Este clar că dacă anterior acest sistem compus din două grupe de cod superpozabil transmitea informația privind participarea la sinteza proteinei a aminoacizilor L și T, ea codifică acum aminoacizii noi (V și G). La analiza numeroaselor mutații care modifică sinteza proteinelor de care ne vom ocupa în cele ce urmează nu s-a constatat transformarea simultană a doi aminoacizi printr-o mutație în codificare într-un singur loc al cromosomului.

O dificultate însemnată întîmpinată de ipoteza codului superpozabil au constituit-o interrelațiile care limitează independența participării la sinteză a diferiților aminoacizi din celulă, interrelații ce rezultă inevitabil din esența acestei ipoteze. Într-adevăr, deoarece simbolurile intră atît în grupa de cod situată la stînga, cît și în cea situată la dreapta, intervine o anume conjugare în codificarea comună a unor anumiți aminoacizi în celulă. Astfel, la cuvîntul ATG, care reprezintă codul aminoacidului L, pot fi întîlnite la dreapta lui, în imediata vecinătate, numai patru grupe de cod diferite, și anume TGA, TGT, TGG și TGC. Același tablou se constată la analiza numărului de cuvinte posibile în partea stîngă a grupei ATG. Totuși, nu s-a constatat o asemenea localizare conjugată (cuplată) a grupelor de cod a unor anumite garnituri de aminoacizi.

Aceste dificultăți pe care le întîmpină ipoteza codului superpozabil au impus necesitatea de a recurge la ipoteza codului nesuperpozabil, adică a codului discontinuu.

Nu putem folosi totuși codul discontinuu în sistemul polinucleotidelor din ADN, dacă în molecula însăși avem o serie fizică continuă de baze nesubîmpărțite nici în sens fizic, nici chimic în unități care să corespundă cuvintelor de cod compuse din trei baze. Căci în interiorul lanțului polinucleotidic nu există nici un fel de virgule care să împartă acest alfabet într-un vocabular alcătuit din cuvinte compuse din trei litere, așezate una după cealaltă în ordine liniară, de-a lungul lanțului polinucleotidic.

Dacă avem trei grupe de cod vecine ATG, TGC, ATC, fiecare din ele asigură participarea la sinteza proteinei a aminoacidului corespunzător (L, T, G). Pentru ca acest complex de simboluri liniar, continuu, nesubîmpărțit în nici un fel în polinucleotid (ATGTGCATC) să acționeze ca un cod discontinuu este necesar ca la transmiterea informației în celulă el să fie descompus în trei cuvinte: ATG, TGC și ATC.

Alfabetul compus din purtători elementari ai informației (baze).....ATGC
Grupe de cod care programează în lanțul polinucleotidic poziția aminoacidului.....ATG
TGC ATC TGT GTG GCA CAT
Aminoacizi în lanțul polipeptidic .....LTG

Numeroase cercetări teoretice apărute în ultimii ani au efectuat analiza logică și matematică a problemei codificării genetice. Una din principalele condiții ale acestei analize a fost căutarea a 20 de grupe de cod pentru 20 de aminoacizi. Prin introducerea unei serii de condiții limită au putut fi găsite soluțiile matematice care să satisfacă acest deziderat. În anul 1961 această problemă a intrat în faza rezolvării sale reale. Cu ajutorul polinucleotidelor artificiale, în experiențe privitoare la genetica fagilor și a virusului mozaicului tutunului, esența codificării genetice a fost descifrată prin experiențe directe. S-a constatat că atunci cînd acționează un cod nesuperpozabil, un aminoacid este codificat

Scanned with OKEN Scanner

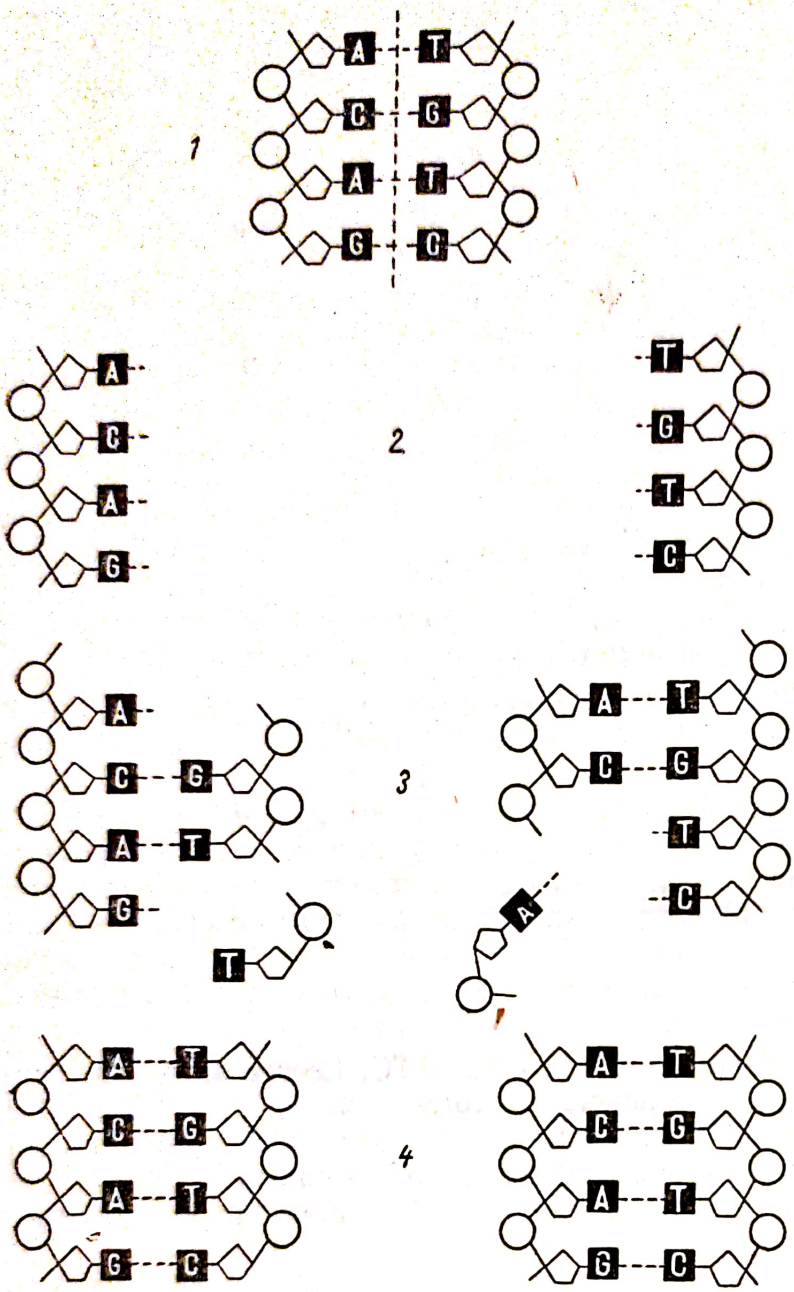


Fig. 37. Duplicarea moleculei de ADN.

Spirala (*1*) compusă din două lanțuri de polinucleotide se dezrăsucește iar lanțurile se despart (*2*); două lanțuri de ADN care se completează reciproc (*3*) încep să-și asocieze nucleotide libere. După asocierea bazelor corespunzătoare se formează două spirale noi (*4*). Cu litere sînt însemnate bazele.

prin cîteva triplete. Experiențele din 1961 și 1962 au permis să se găsească o parte din aceste triplete pentru toți cei 20 de aminoacizi.

În prezent este greu să se aprecieze însemnătatea acestor descoperiri. Descifrarea codului genetic în sistemul moleculelor de ADN are o importanță deosebită pentru genetică și biochimie. Aceste descoperiri din domeniul biologiei moleculare vor marca o epocă tot atît de importantă în istoria sa ca și descoperirea, în 1939, a dezintegrării uraniului, în istoria fizicii nucleare. În cele ce urmează vom expune amănunțit datele privitoare la descifrarea codului de informație genetică.

Atunci cînd examinăm dubla structură a moleculei de ADN se naște întrebarea dacă un lanț polinucleotidic al moleculei de ADN are funcție genetică, iar celălalt nu, și care este rolul biologic al dublei spirale a moleculei de ADN? Însemnătatea acestei structuri duble nu a fost încă pe deplin lămurită, dar este neîndoielnic că ea joacă un rol foarte important în procesele de autoreproducere a materialului genetic.

Esența ipotezei autoduplicării moleculelor de ADN constă în următoarele. Se presupune că fiecare lanț polinucleotidic reprezintă o structură care, în condițiile existente în celulă, poate construi alături de el un lanț polinucleotidic complementar. Condiția necesară pentru sinteza unui asemenea lanț este descompunerea, fie chiar parțială, a dublei structuri în două polinucleotide libere. Procesul de dedublare a moleculelor de ADN este prezentat în fig. 37. În partea de sus este figurat un segment al moleculei duble de ADN (1), în care patru baze (A, T, G, C) sînt unite complementar în perechi prin punți de hidrogen.

Scanned with OKEN Scanner

Prin derularea spiralei, molecula se desface în două lanţuri polinucleotidice (2). În această etapă încep să acţioneze forţele de atracţie care determină asocierea la fiecare lanţ polinucleotidic a nucleotidelor activate, sintetizate anterior în citoplasmă. Aceste nucleotide noi se asociază complementar la nucleotidele lanţului polinucleotidic iniţial care joacă rolul unei matriţe. În lanţul polinucleotidic adeninei i se asociază timina, timinei-adenina, guaninei—citozina şi citozinei—guanina. În urma unei asemenea atracţii se construieşte de-a lungul lanţului polinucleotidic iniţial o catenă complementară în care bazele sînt aşezate în strictă concordanţă cu ordinea în care sînt dispuse în polinucleotidul matricial. Noul lanţ complementar este compus iniţial din nucleotide libere separate, menţinute prin punţi de hidrogen (3). Ulterior acţiunea enzimelor provoacă închiderea legăturilor între moleculele de acid fosforic şi de zahar, ceea ce are ca urmare apariţia filamentului complementar al ADN-ului cu structură unică. Formarea a două spirale în locul unei spirale iniţiale duce la apariţia moleculei duble de ADN, răsucite în formă de spirală.

Vedem că cele două molecule de ADN apărute prin autoreproducerea fiecăruia din cele două lanţuri separate polinucleotidice care intră în structura acestei molecule (4) are aceeaşi structură ca şi molecula iniţială (1). Acest fenomen poate fi lesne înţeles în lumina mecanismului molecular al autoreproducerii descris mai sus. În acest caz, filamentul de polinucleotid construieşte alături de el un lanţ strict complementar, care repetă întrutotul structura lanţului care a completat acest filament în molecula iniţială. Deoarece în procesul de autoreproducere ordinea de succesiune a bazelor se repetă, molecula de ADN îşi menţine în întregime codul genetic care îi este specific. Astfel, informaţia ereditară are posibilitatea de a se transmite integral tuturor descendenţilor ei şi de la o generaţie de organisme la altă generaţie.

Caracterul real al acestui aspect al autoreproducerii moleculelor de ADN a fost dovedit în recentele experienţe de replicare a acestor molecule izolate din corpul unor virusuri.

Unul din izotopii stabili (neradioactivi) ai azotului are în nucleu un neutron în plus. Este aşa-numitul azot greu (N^{15}). Prin cultivarea a numeroase generaţii de bacterii într-un mediu în care singura sursă de azot erau ionii de nitrat greu $N^{15}O_3^-$, în toate bazele ADN-ului N^{14} a fost înlocuit cu N^{15}.

Masa moleculei de ADN se modifică dacă ea conţine azot greu. La ultracentrifugare într-un gradient de densitate de CsCl se produce redistribuirea moleculelor de ADN după densitatea lor. Cea mai mare densitate o au moleculele de ADN care conţin N^{15} în toate bazele, adică în ambele lanţuri polinucleotidice; această densitate devine medie pentru moleculele „hibride", care au într-un lanţ N^{15} şi în celălalt N^{14} şi este minimă pentru moleculele care au N^{14} în ambele lanţuri.

În fig. 38 este redată o experienţă de urmărire a transformărilor polinucleotidelor din celulele colibacilului, la care toate bazele din ADN aveau azot greu N^{15}. În figură este reprezentat ADN-ul din celula iniţială, în care toate bazele conţin azot greu N^{15}. Aceste bacterii au fost introduse într-un mediu nutritiv care conţinea numai N^{14}. La prima diviziune a celulelor bacteriene, autoreproducerea moleculelor de ADN sub formă de lanţuri polinucleotidice separate trebuia să ducă la apariţia unor molecule „hibride". La asemenea molecule un lanţ (cel iniţial) trebuie să fie alcătuit în întregime din baze cu azot greu N^{15}, iar al doilea lanţ, cel nou, sintetizat din substanţe lipsite de azot greu, trebuie să fie compus în întregime din baze conţinînd azotul obişnuit N^{14}. Asemenea molecule „hibride" cu greutate redusă au fost într-adevăr constatate în prima

Scanned with OKEN Scanner

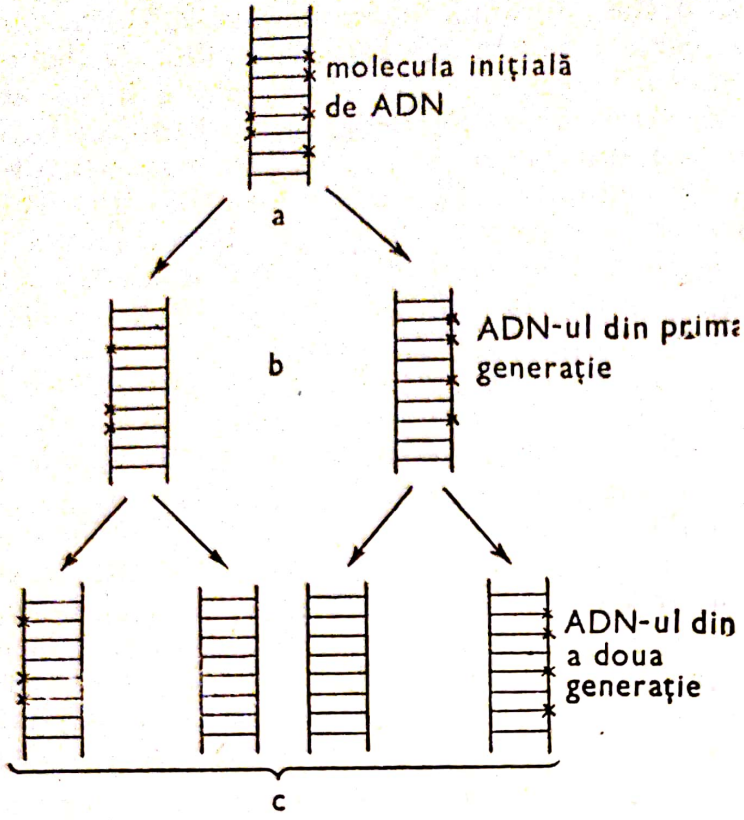


Fig. 38. Autoreproducerea moleculei de ADN în care polinucleotidele sînt marcate cu N^{15}

a — molecula inițială de ADN (cu steluțe sînt indicați atomii de N^{15} incluși); *b* — moleculele „hibride" din prima generație; *c* — repartiția azotului greu în moleculele din generația a doua.

generație provenită din celulele inițiale (fig. 38 *b*). La cea de-a doua generație era de presupus că se va reduce mai departe cantitatea de azot greu. În a doua generație cantitatea de N^{15} a scăzut la 0,25% din cantitatea totală de azot din celule. Repartiția lui a avut însă un caracter cu totul deosebit. În a doua generație jumătate din numărul moleculelor nu conținea azot greu, pe cînd cealaltă jumătate conținea molecule de ADN „hibrid", în care într-un lanț polinucleotidic se afla azotul greu. Aceasta dovedește că lanțul polinucleotidic al ADN-ului este transmis în întregime din generație în generație (judecînd după marcarea lui cu N^{15}) și constituie o matriță în sinteza lanțului său complementar*.

Analiza naturii autoreproducerii moleculelor de ADN a putut fi dezvoltată prin analiza autoduplicării moleculelor în condiții artificiale. S-a demonstrat că încălzirea soluției de acizi nucleici izolați din virusuri sau din celule pînă la temperatura de 80—90°C provoacă desfacerea moleculei de ADN în cele două lanțuri polinucleotidice care o alcătuiesc. Acest proces în care structura își pierde caracterul natural (sau starea nativă), poartă numele de denaturare **. În mod obișnuit, acțiunea temperaturii ridicate provoacă denaturarea moleculelor de ADN. Dacă amestecul de ADN denaturat, format din polinucleotide monocatenare, este lăsat să se răcească încet, cu precauție, polinucleotidele monocatenare se asociază și formează din nou molecule bicatenare de ADN. În acest fel se produce reconstituirea structurii inițiale a moleculei.

Este foarte interesant faptul că lanțurile polinucleotidice complementare pot fi de proveniență diferită.

Astfel, dacă se ia ADN din celulele unei tulpini de colibacil la care moleculele de ADN conțin în toate bazele N^{15} și se amestecă cu molecule de ADN dintr-o altă tulpină, care conține N^{14}, se poate obține la temperatură ridicată denaturarea moleculelor de ADN. În felul acesta se obține un amestec de poli-

* Această duplicare în care un lanț servește ca matriță pentru sinteza noului lanț complementar se numește duplicare semiconservativă: noua moleculă de ADN este formată dintr-un lanț vechi nemodificat și un lanț complet nou.—*N.R.*

** Denaturarea constă în desfacerea legăturilor de hidrogen dintre bazele celor două lanțuri complementare care formează dubla spirală coaxială. Prin răcire, legăturile de hidrogen se refac. Este vorba deci de o denaturare reversibilă. —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

nucleotide monocatenare care conțin izotopi diferiți ai azotului. La reconstituirea care are loc în condițiile răcirii lente a amestecului apar molecule „hibride", în care un lanț conține N^{15}, iar altul N^{14}. Aceste molecule (fig. 14), obținute *in vitro*, corespund perfect moleculelor „hibride" de ADN sintetizate în condiții naturale prin procesul de autoreproducere a celulelor cu N^{15} cultivate pe un mediu conținînd izotopul ușor N^{14}.

Pentru clarificarea mecanismului de autoreproducere a moleculelor de ADN sînt foarte interesante lucrările privind descoperirea mecanismului de sinteză biologică a acizilor nucleici și cele care se referă la sinteza artificială a moleculelor de ADN și ARN.

Sinteza moleculelor de ADN se face cu consum de energie, de aceea ea nu se realizează pe seama nucleotidelor simple. Aceste nucleotide trebuie îmbogățite în energie prin fosforilare, adică prin asocierea de pirofosfat din acidul adenozintrifosforic (ATP). ATP-ul joacă un rol excepțional în viața celulei, deoarece el reprezintă compusul care o aprovizionează cu energia eliberată în organism prin oxidarea moleculelor organice, energie pe care o poate apoi transmite altor molecule, participînd astfel la cele mai variate procese ale metabolismului celular. Acest minunat acumulator și vector de energie are la baza structurii sale acidul adenilic, pe care îl cunoaștem și care intră în componența moleculelor acizilor nucleici.

După cum am văzut mai înainte, acidul adenilic este compus dintr-o bază (adenină), un zahar (riboză) și un radical de acid fosforic (fig. 33). Se cunoaște o grupă de enzime (fosforilaze) care catalizează combinarea moleculelor organice cu acidul fosforic și o altă grupă de enzime care catalizează reacția de transport a grupărilor chimice de la moleculele unor compuși organici la moleculele altor compuși. Enzimele care catalizează transportul radicalilor fosforici de la unii compuși la alții au căpătat denumirea de fosfoferaze. În urma activității fosforilazelor și fosfoferazelor se sintetizează molecule de acid adenozintrifosforic (fig. 39) care au doi din cei trei radicali fosforici legați prin legături eterice (~ P — O ~ P). În fiecare legătură eterfosforică este concentrată o cantitate foarte mare de energie — circa 12 500 cal/mol g, care se eliberează prin ruperea

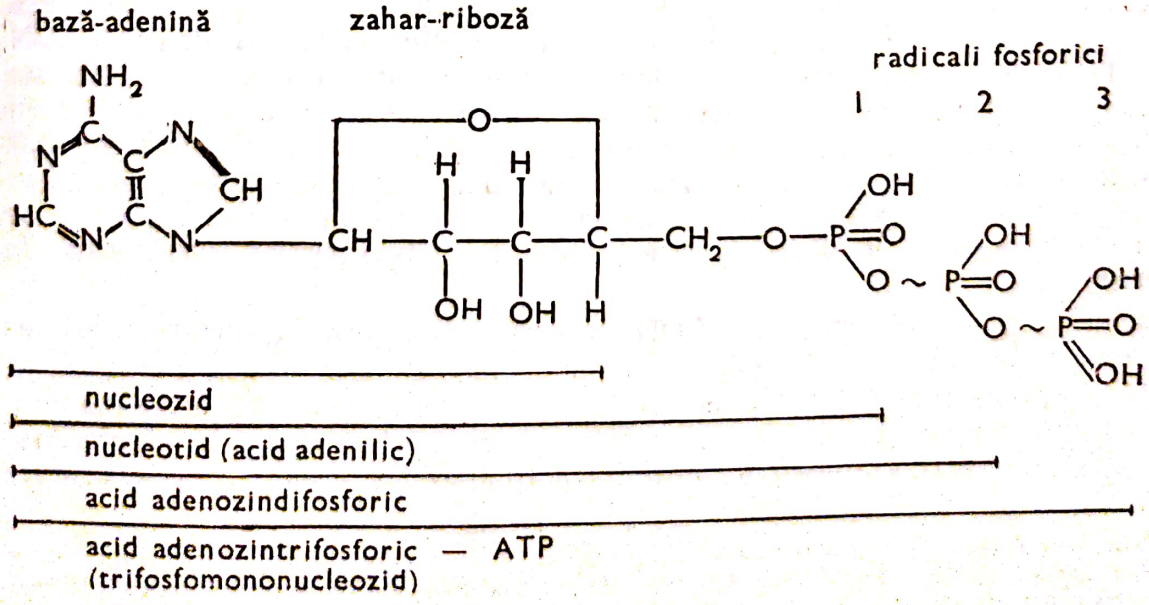


Fig. 39. Formula acidului adenozintrifosforic (A T P). Semnul ~ indică legăturile macroergice.

acesteia. Astfel, acidul adenozintrifosforic nu este decît acid adenilic în stare fosforilată.

În reacţia ferazică din ATP se rupe un radical fosforic (fosforil):

$$\sim P \begin{cases} O^- \\ =O, \\ OH \end{cases}$$ care este transportat pe altă moleculă.

Această reacţie determină activarea* nucleotidelor care conţin adenină, guanină, citozină şi timină. Sinteza moleculelor de ADN (*in vitro*) are loc numai atunci cînd în eprubetă se găseşte o enzimă specială (izolată la început din celulele bacteriene), denumită polimerază, (dezoxipolinucleotidpirofosforilaza) şi toate cele patru nucleotide (ATGC), care se află în stare fosforilată. Starea fosforilată a timinei poate fi prezentată astfel: T—Z—P~P~P (T = timină, Z = zahar, 3P = trei radicali fosforil), adică sub formă de timidintrifosfat (TTP); adenina sub formă de A—Z—P~P~P (ATP), adică sub formă de acid adenozintrifosforic; citozina sub formă de C—Z—P~P~P (CTP) şi guanina sub formă de G—Z—P~P~P (GTP).

O condiţie care trebuie respectată la sinteza artificială a moleculelor de ADN este introducerea în eprubetă nu numai a trifosfonucleozidelor şi a polimerazei, ci şi a unei mici cantităţi de „matriţă" sub formă de molecule de ADN. Însemnătatea acestei „matriţe" constă în faptul că sinteza moleculelor noi de ADN nu poate să începă fără influenţa organizatoare a moleculelor iniţiale de-a lungul cărora, ca pe o matriţă, trifosfonucleozidele izolate se dispun într-un mod sistematizat, datorită forţelor de atracţie. Acest proces de distribuire sistematizată a trifosfonucleozidelor în concordanţă cu structura moleculei iniţiale necesită, prin urmare, prezenţa de locuri libere pentru fixarea lor. Astfel de locuri nu există în moleculele în spirală dublă. Prin urmare, după cum s-a arătat mai înainte, în sinteza de noi molecule de ADN pe matriţă trebuie să existe un filament monocatenar de polinucleotid. Într-adevăr, moleculele duble de ADN au capacitatea de a fi matriţă după încălzire, cînd se produce ruperea punţilor de hidrogen, astfel încît moleculele duble se desfac în lanţurile polinucleotidice din care sînt alcătuite. Am vorbit deja despre bacteriofag, care conţine ADN monocatenar şi nu bicatenar. Moleculele de ADN fagic pot servi drept matriţe în sinteza de ADN. Acest din urmă act în sinteza moleculei de ADN constă în legarea sub acţiunea polimerazei a mononucleotidelor în lanţul complementar de polinucleotid. În acest caz se produce descompunerea trifosfonucleozidelor, după care mononucleotidele intră în compoziţia noului polinucleotid, iar cîte două molecule de acid fosforic sînt puse în libertate sub formă de pirofosfat.

Schema sintezei moleculei de ADN conform mecanismului descris mai sus este reprezentată în fig. 40—42.

Astfel, sinteza lanţului polinucleotidic care se realizează atît în celula vie, cît şi *in vitro*, după introducerea în eprubetă a celor patru nucleozide fosforilate diferite, nu se realizează decît în prezenţa polimerazei şi a matriţei reprezentate

---

* Activarea se face cu două molecule de acid fosforic din ATP: Ad—P ~ P ~ P + nucleotid → Ad—P + nucleotid ~ P ~ P, adică se transferă de pe ATP pe nucleotid o moleculă de pirofosfat (~ P ~ P) şi enzima este o pirofosfattransferază sau pirofosforilază. Prin valenţa ondulată (~) se simbolizează o legătură covalentă mai bogată în energie sau o legătură macroergică. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

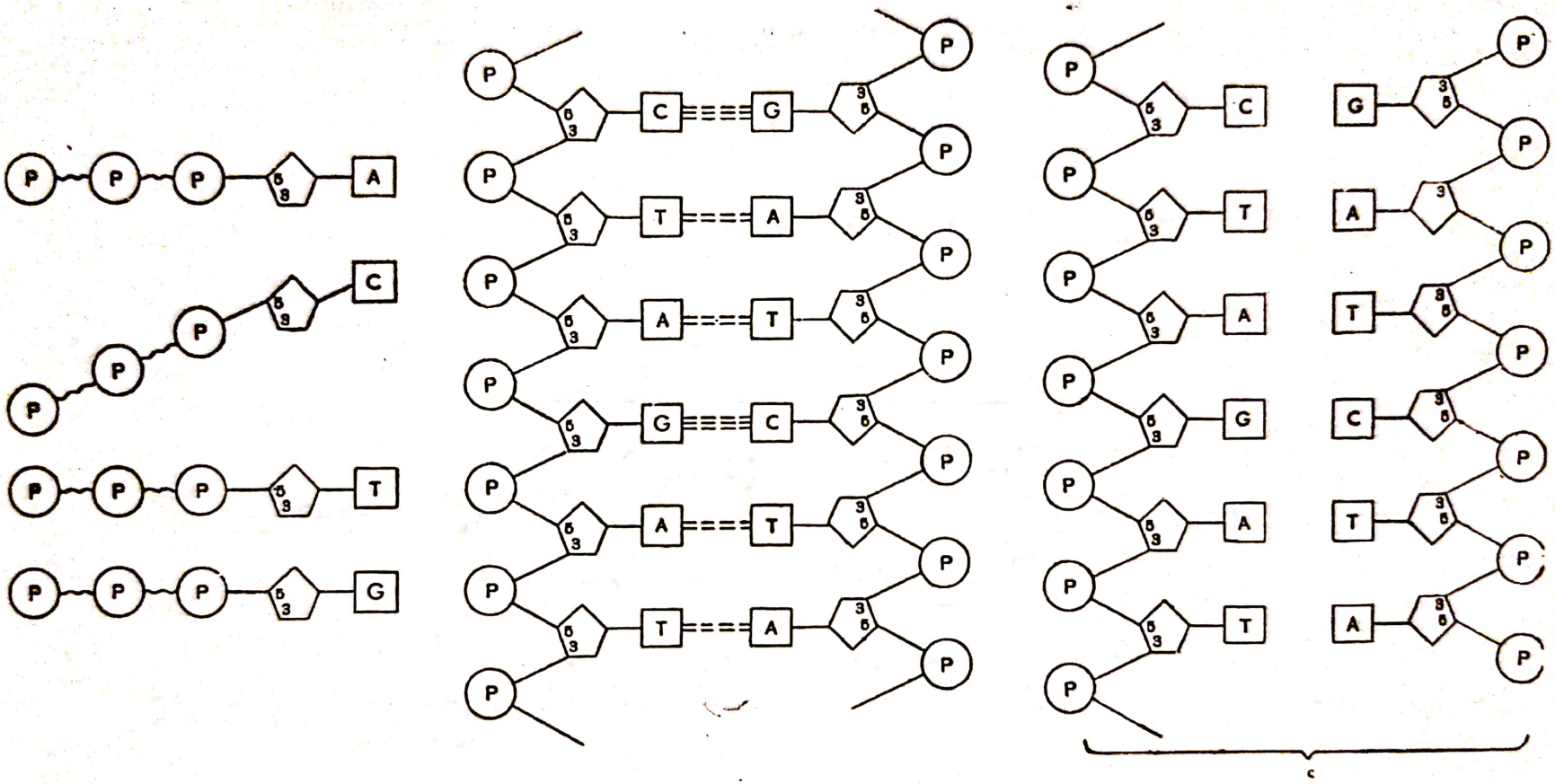


Fig. 40. Etapele de bază în sinteza moleculei de ADN. Schema I:

a — prezența concomitentă a celor patru trifosfonucleotide necesare pentru inițierea sintezei ADN-ului; *b* — fragment de moleculă de ADN „matriță", sub formă de spirală dublă, în care două lanțuri de polinucleotide sînt unite prin punți de hidrogen; *c* — desfacerea moleculei duble de ADN în polinucleotide monocatenare (*in vitro* sub acțiunea temperaturii înalte, în celula vie sub acțiunea enzimelor, la temperatura obișnuită). *A* — adenină, *C* — citozină, *T* — timină, *G* — guanină, *P* — fosfor

Scanned with OKEN Scanner

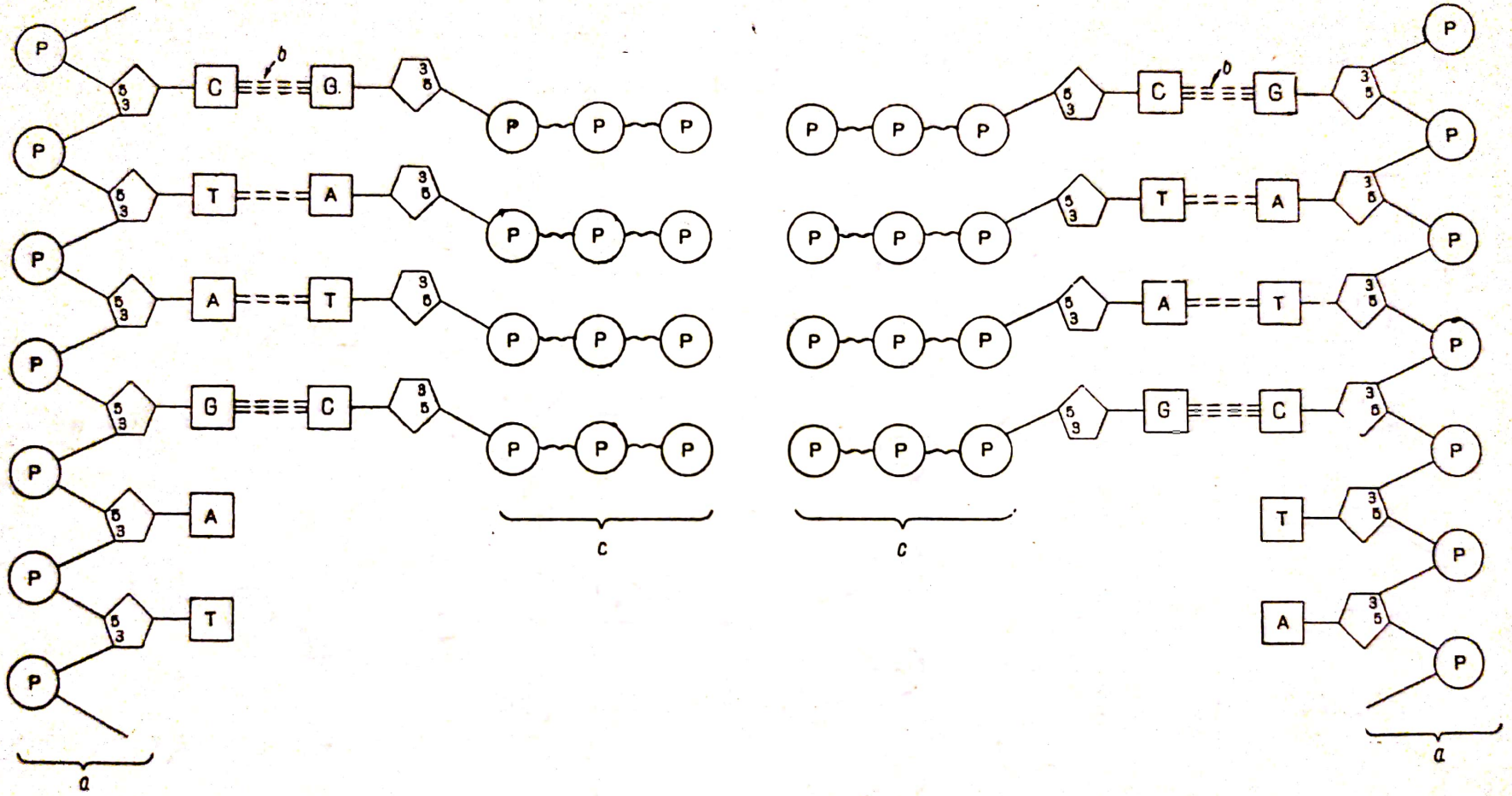


Fig. 41. Etapele principale ale sintezei moleculelor de ADN.

Atragerea trifosfonucleotidelor spre bazele complementare de-a lungul lanțului polinucleotidic „matriță". Schema II: *a* — polinucleotid monocatenar; *b* — noi punți de hidrogen, care apar sub acțiunea puterii de atracție complementare și cuplează bazele în perechi (G—C; C—G; A—T; T—A); *c* — trifosfonucleotide.

Scanned with OKEN Scanner

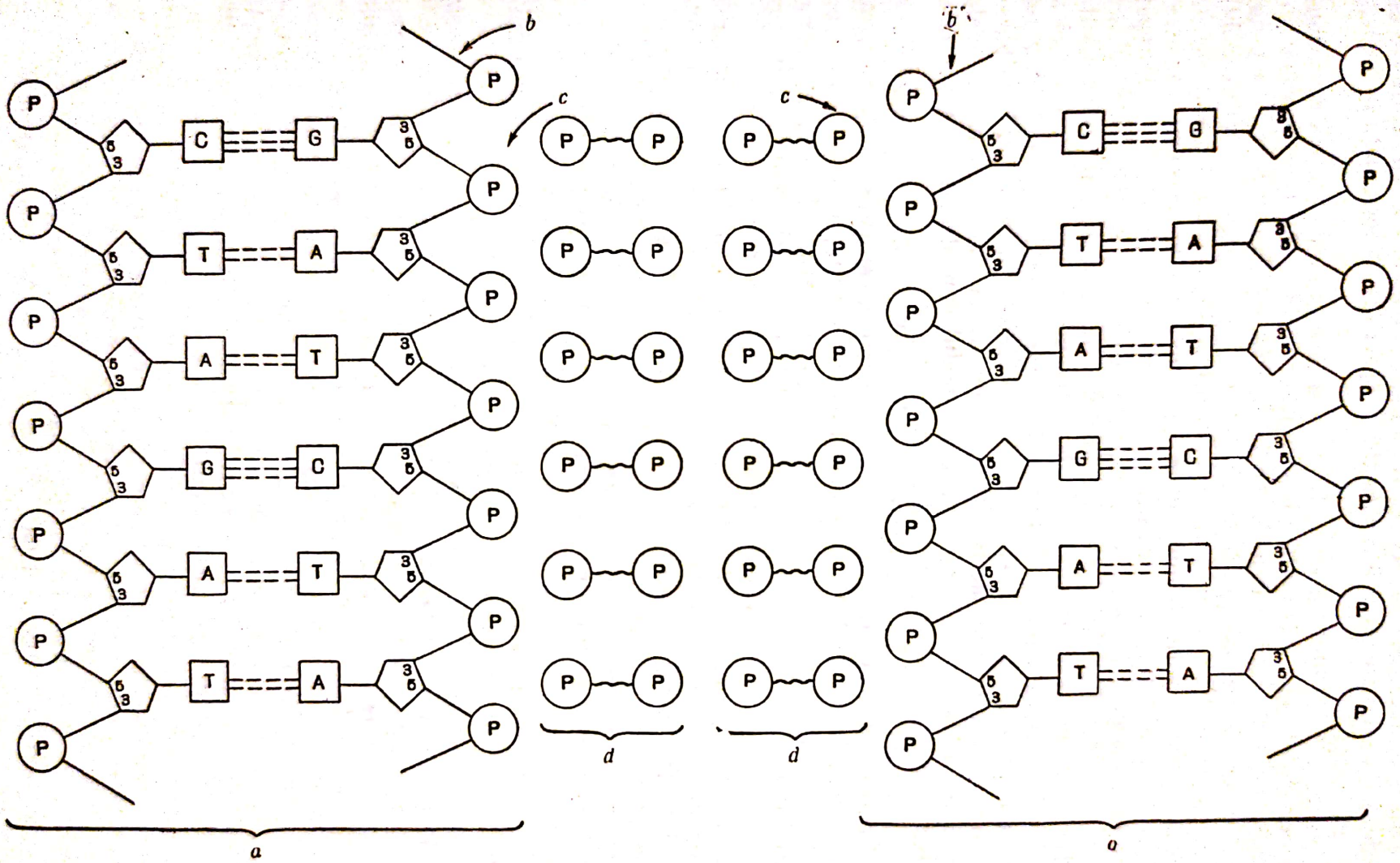


Fig. 42. Etapele principale ale sintezei moleculelor de ADN. Schema III:
a — noi molecule spiralate bicatenare de ADN; *b* — acțiunea polimerizantă a polimerazei; *c* — defosforilarea trifosfonucleotidelor, care duce la eliberarea pirofosfatului; *d* — pirofosfați.

Scanned with OKEN Scanner

prin molecule monocatenare de ADN. În urma unei astfel de sinteze apar noi molecule de ADN cu o compoziţie nucleotidică specifică, determinată de matriţa introdusă în eprubetă.

Aşadar, sinteza ADN-ului nu se poate realiza fără proteine-enzime care angrenează mononucleotidele într-un lanţ unic polinucleotidic. Sinteza precursorilor acestor molecule — a nucleotidelor — se realizează de asemenea sub acţiunea unui întreg sistem de enzime (proteine). Totuşi enzimele singure nu sînt capabile să dea moleculei de ADN organizarea ei specifică. Pentru aceasta este necesar ca nucleotidele libere să fie dispuse liniar, păstrînd cu stricteţe poziţia fiecăreia dintre miile de baze, astfel încît ordinea caracteristică a nucleotidelor să se repete în lanţul complementar. În acest caz, împreună cu catena matriţă, nucleotidele alcătuiesc o moleculă identică cu molecula dublă iniţială de ADN. Specificitatea structurală a noilor molecule de ADN autoreproduse se datoreşte forţei de atracţie complementară a matriţei. Secretul sintezei moleculelor de ADN a fost descoperit în experienţe care au permis realizarea acestei sinteze *in vitro*. Ulterior, prin folosirea fosforului radioactiv (P^{32}), legat de dezoxiriboza nucleozidelor în poziţia 5 (vezi fig. 40), s-a putut urmări modul cum decurge polimerizarea mononucleotidelor în noi lanţuri polinucleotidice.

Sinteza moleculelor celulare proprii de ADN, cît şi aceea a moleculelor de ADN viral care au pătruns în celulă are un caracter comun, unitar. Într-o astfel de sinteză moleculele noi de ADN, la fel ca şi moleculele iniţiale care le-au servit ca matriţă, au o specificitate biologică foarte pronunţată. Ele nu sînt numai identice prin proprietăţile lor fizice şi chimice cu moleculele-matriţă din care provin, dar posedă în plus şi specificitatea biologică a acestora.

Rezolvarea unor probleme de importanţă capitală, cum sînt descoperirea căilor de sinteză a moleculelor de ADN şi reproducerea acestei sinteze în condiţii artificiale (*in vitro*) reprezintă una din cele mai însemnate realizări ale ştiinţei contemporane. Astăzi în faţa biochimiei se ridică problema majoră a sintezei artificiale a moleculelor biologic active de ADN. Această problemă este fundamentală pentru întreaga biologie şi pentru toate ştiinţele naturii din secolul nostru. Nutrim mari nădejdi în succesul acestor experienţe.

Problema aceasta va fi rezolvată iar noi vom pătrunde în domeniul încă misterios şi nelămurit al fenomenelor care leagă viaţa de lumea anorganică.

O celulă vie nu conţine decît molecule şi atomi şi totuşi ea are anumite proprietăţi datorită specificului calitativ al organizării, interacţiunii şi autoînnoirii substanţelor ei componente. În faţa cercetătorilor stă sarcina de a descoperi natura materială a acestei organizări, a proceselor foarte complexe de interacţiune şi autoînnoire a substanţelor celulare, procese care se desfăşoară sub acţiunea substanţelor şi energiei pătrunse din mediul extern. Este necesar să se descopere calea de realizare a unei anumite succesiuni a fenomenelor fizice şi chimice care au loc în condiţiile unei organizări biologice şi biochimice speciale. Aceste fenomene stau la baza apariţiei în mişcarea materiei a unor particularităţi calitativ noi care determină specificul vieţii.

Dintre aceste fenomene, autoreproducerea moleculelor de ADN biologic active şi biosinteza proteinelor, proces pe care îl vom examina în capitolul următor, ocupă locul principal în activitatea celulei vii. Ereditatea şi toate celelalte proprietăţi fundamentale ale vieţii sînt legate de capacitatea celulei de a reproduce moleculele de acid dezoxiribonucleic specifice, deci caracteristice pentru o specie dată şi pentru un organism dat, molecule care programează sinteza proteinelor specifice.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

1. A. N. Belozerschii, *Nucleinovie chisloti*, Moskva, Izd. Vses.-va po raspr. znanii, 1961.
2. C. Liventhal, *Genetic and the role of nucleic acids*, în „Rev. Modern Physics," 31, no, I, 1959.
3. F. H. C. Crick, *The structure of the hereditary material*, în The physics and chemistry of life, „Scientific american books".
4. A. E. Nirsky, *The chemistry of heredity*, în The physics and chemistry of life, „Scientific american books",
5. A symposium on the chemical basis of heredity. The Johns Hopkins press.1957.
6. S. Pich., J. Watson, *Some relations between DNA and RNA*, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) *48*, 8, 759—764, 1954.
7. J. D. Watson, F. H. C. Crick, *The structure of DNA*, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, *18*, 123—131, 1953.
8. S. Benzer, *Genetic fine structure*. Harvey Lectures, 56. 1951.

6. Reproducerea şi transmiterea informaţiei genetice în celula vie (bazele moleculare ale sintezei proteinelor)

Proteinele sînt substanţele cele mai importante şi totodată cele mai complexe din punct de vedere chimic, iar proprietăţile lor vitale se bazează pe schimbul de substanţe dintre organisme şi mediul înconjurător.

Proteinele constituie circa 45% din substanţa uscată a organismelor animale. În compoziţia proteinelor intră carbonul, oxigenul, hidrogenul, azotul, sulful şi adeseori fosforul *. Totuşi, simpla enumerare a elementelor care intră în compoziţia proteinelor nu redă imaginea structurii lor. Această imagine se clarifică prin cunoaşterea produşilor de scindare a proteinelor, obţinuţi în urma hidrolizei cu acid sulfuric sau acid clorhidric, cu diferite baze şi numeroase enzime. Hidroliza duce la descompunerea proteinelor în aminoacizii din care sînt constituite (tabelele 3 şi 4).

Printre compuşii ciclici întîlnim, pe de o parte, grupul compuşilor hemociclici (carbociclici), iar pe de altă parte grupul compuşilor heterociclici **.

Compuşii hemociclici sînt alcătuiţi din cinci sau şase atomi de carbon ciclizaţi (fig. 43). În ce priveşte compuşii heterociclici, în lanţurile lor ciclizate se află, pe lîngă atomii de carbon, şi atomi străini (fig. 44).

Am văzut aşadar care sînt cei 20 de aminoacizi — cele 20 de „cărămizi" care stau la baza proteinelor. Am arătat mai sus că prezenţa în molecula ADN-ului a unui număr de patru baze azotate diferite condiţionează o diversitate practic nelimitată a acestor molecule. Ce se întîmplă în cazul în care proteinele sînt construite din 20 de cărămizi diferite? Chiar dacă molecula de proteină s-ar compune din numai 20 de aminoacizi, cîte o moleculă din fiecare tip, datorită

---

* În structura aminoacizilor intră C, H, O şi N. Doi aminoacizi conţin sulf (metionina şi cisteina). Fosforul şi alte elemente apar în proteine prin combinaţia lanţurilor polipeptidice cu acid fosforic, compuşi organici ai fierului etc. sau prin fixare de ioni (Cl^-, K^+ etc). — *N.R.*

** Aminoacizii trecuţi în tabelele 3 şi 4 ca nesintetizabili sau esenţiali nu pot fi sintetizaţi în organismul omenesc. Sînt animale care nu sintetizează un număr mai mare sau mai mic de aminoacizi. Norleucina nu este un aminoacid nesintetizabil iar cistina, formată din două molecule de cisteină, este dipeptid şi nu ar trebui să figureze în tabel. — *N.R.*

Tabelul 3

AMINOACIZI ACICLICI

Tipul de aminoacizi	Denumirea	Capacitatea organismului de a sintetiza aminoacizii
Aminoacizi monoamino-monocarboxilici	Glicocolul	Este sintetizat în organismul animal
Idem	Alanina	Este sintetizată în organismul animal. Constituie substanţa de bază pentru sinteza a numeroşi alţi aminoacizi
Idem	Serina	Derivat al alaninei. Este sintetizată în organism.
Idem	Treonina	Nu este sintetizată în organism. Trebuie să fie introdusă în formă finită odată cu hrana
Idem	Valina	Derivat al alaninei. Nu se sintetizează în organism
Idem	Leucina	Se găseşte în cantitate însemnată în toate proteinele. Nu se sintetizează în organism
Idem	Izoleucina	Se găseşte în proteine într-o cantitate mică. Nu este sintetizată în organism
Idem	Norleucina	Idem
Aminoacizi conţinînd sulf	Cisteina	Poate fi sintetizată din metionină
Idem	Cistina	Formată din două molecule de cisteină
Idem	Metionina	Nu este sintetizată în organism
Aminoacizi monoamino-dicarboxilici	Acidul aspartic *	Se sintetizează în organismul animal
Idem	Acidul glutamic **	Este sintetizat în organism
Aminoacizi diaminomo-nocarboxilici	Lizina	Nu este sintetizată în organism
	Arginina	Substanţa de bază pentru sinteza ornitinei şi citrulinei

Tabelul 4

AMINOACIZI CICLICI

Tipul de aminoacizi	Denumirea	Capacitatea organismului animal de a sintetiza aminoacizii
Homociclici	Fenilalanina	Nu este sintetizată în organism
	Tirozina	Se poate sintetiza din fenilalanină
Heterociclici	Triptofanul	Nu este sintetizat în organism
	Histidina	Este sintetizată în organism
	Prolina	Este sintetizată în organism

* şi ** În structura proteinelor intră şi amida acidului aspartic — asparagina — şi amida acidului glutamic — glutamina, adică doi aminoacizi care nu figurează în tabel, ca şi acidul hidroxiglutamic şi hidroxiprolina. Aminoacizii ornitina şi citrulina nu intră în compoziţia proteinelor, sînt termeni ai ciclului ureopoetic argininic, —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

diverselor poziţii pe care le pot ocupa unii faţă de alţii, ei ar putea forma 2 432 902 008 176 640 000 molecule diferite. De fapt în compoziţia moleculelor unor proteine complexe intră sute şi mii de aminoacizi, astfel încît numărul structurilor posibile ale moleculelor de proteină este practic nelimitat.

Structura moleculei de proteină este foarte complexă. Trăsăturile principale ale acestei structuri au fost puse în evidenţă, pe de o parte, prin studiul amă-

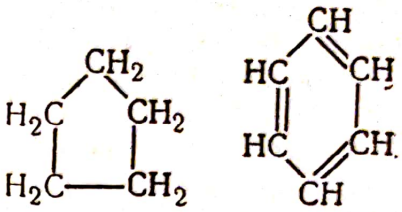


Fig. 43. Lanţuri de carbon ciclizate — nuclee homociclice.

nunţit al hidrolizei totale şi parţiale a proteinelor, iar pe de altă parte prin sinteza în laborator a lanţurilor polipeptidice din aminoacizi. Din cele expuse anterior am văzut că hidroliza totală duce la descompunerea proteinelor în aminoacizi. Totuşi, dacă hidroliza enzimatică se face încet şi cu precauţie, moleculele proteinelor * se descompun în produşi intermediari, care au căpătat denumirea de polipeptide. Aceleaşi polipeptide au fost sintetizate din aminoacizi. Această sinteză are loc în condiţii determinate: legarea aminoacizilor în lanţul polipeptidic se face cu eliminarea unei molecule de apă pentru fiecare moleculă de aminoacid. În fig. 45 se vede că reacţia dintre doi aminoacizi cu eliminarea unei molecule de apă (H_2O) duce la formarea unui dipeptid. Prin reacţia dipeptidului cu o nouă moleculă de aminoacid se formează un tripeptid şi se pierde o moleculă de apă etc. Se poate forma astfel un lung lanţ polipeptidic care conţine sute şi mii de aminoacizi.

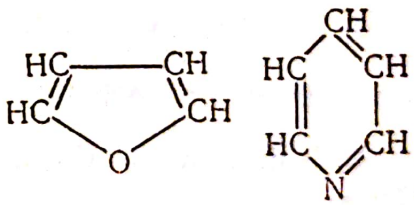


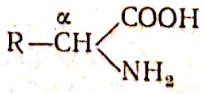
Fig. 44. Un heterociclu cu oxigen şi un heterociclu cu azot.

Legătura dintre aminoacizii combinaţi (vezi fig. 45), formată prin eliminarea moleculelor de apă, se repetă de-a lungul întregului lanţ polipeptidic **. Deoarece această legătură se stabileşte între grupările carboxilice şi aminice specifice, fără excepţie, tuturor aminoacizilor, ea este identică pentru toate polipeptidele,

---

* Proteinele sînt polipeptide. După o nomenclatură mai veche, erau numite polipeptide numai fragmentele rezultate din digestia peptică a proteinelor. Azi se foloseşte denumirea de oligopeptide pentru a desemna polipeptidele cu număr mic de aminoacizi. — *N.R.*

** Toţi aminoacizii sînt α-aminoacizi, adică au o funcţie bazică aminică ($-NH_2$) în poziţia α faţă de funcţia acid carboxilic ($-COOH$):



Restul moleculei aminoacidului (R—) poate avea o a doua funcţie amină (diaminoacizi) sau o a doua funcţie acid (aminodiacizi).

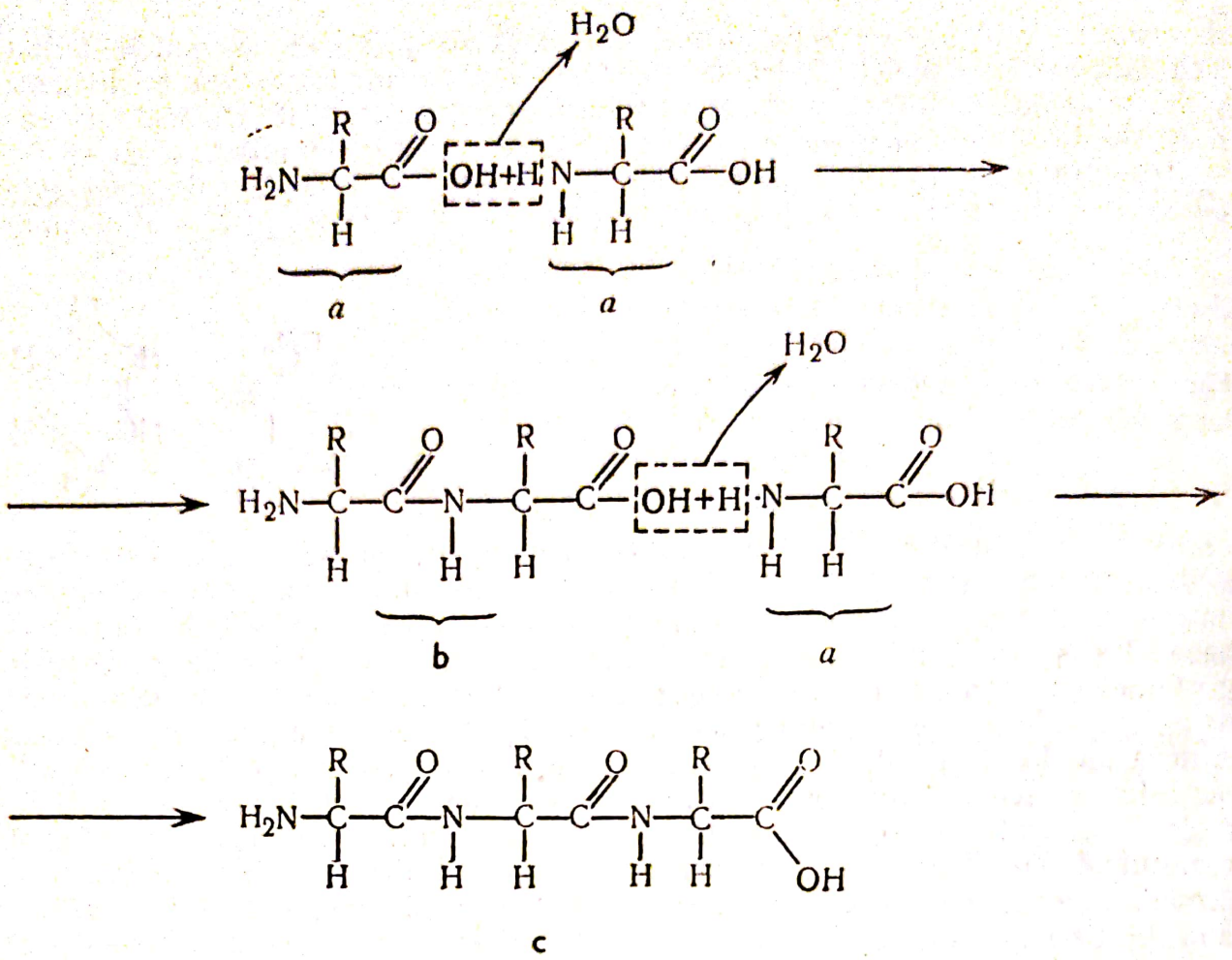
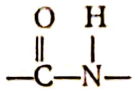


Fig. 45. Sinteza polipeptidelor din aminoacizi cu eliminarea unei molecule de apă (H_2O) și formarea legăturii peptidice



a — aminoacid; *b* — dipeptid; *c* — tripeptid

oricît de deosebită ar fi compoziția lor în aminoacizi. Această legătură sub forma grupării

caracteristică pentru toate peptidele a căpătat denumirea de legătura peptidică *.

Polipeptidele sintetizate artificial conțin în prezent pînă la 19 aminoacizi ** În proteinele naturale au fost descoperite molecule cu diferite structuri, conținînd zeci, sute și mii de aminoacizi.

Masa moleculară a unui polipeptid compus dintr-o sută de aminoacizi este de 12 000 ***. Totuși, masa moleculară a proteinelor ajunge la cîteva milioane.

---

* Legătura peptidică este o legătură amidică între gruparea α-aminică a unui aminoacid și gruparea carboxilică a aminoacidului următor, adică aminoacizii formează lanțurile polipeptidice prin grupările α-aminoacide. — *N.R.*

** Recent au fost sintetizate și lanțuri mai lungi. Așa, de exemplu, a fost sintetizată insulina, formată dintr-un lanț polipeptidic de 21 de aminoacizi și altul de 30 de aminoacizi.—*N.R.*

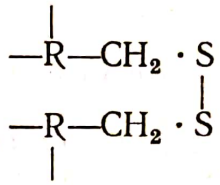
*** Este vorba de masa moleculară medie aproximativă pentru că un lanț polipeptidic format din o sută de molecule de glicocol ar avea masa de 7 500, iar din molecule de fenilalanină — 16 500. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Molecula proteinei are o structură tridimensională. Cum sînt legate polipeptidele în interiorul unei molecule de proteină şi cum se traduc aceste legături în structura spaţială a moleculei?

S-a constatat că, la fel ca în molecula de ADN, în care două lanţuri polinucleotidice sînt menţinute unul lîngă celălalt cu ajutorul punţilor de hidrogen, aceleaşi punţi constituie legătura principală şi pentru structura internă a proteinei. Punţile de hidrogen sînt de 10—12 ori mai puţin stabile decît legăturile chimice obişnuite, numite legături covalente. Este ştiut că proteinele sînt foarte labile. Cauza acestui fenomen o constituie, în esenţă, prezenţa legăturilor de hidrogen în molecula proteinei. În fig. 46 este prezentată o imagine tipică de asociere a două polipeptide prin punţi de hidrogen.

A doua formă esenţială de legătură între polipeptide se realizează prin punţile disulfurice, adică prin formarea grupelor disulfurice prin cisteină care conţine sulfhidril (—SH). Apropierea grupelor —SH aparţinînd la două molecule de cisteină din lanţuri diferite duce la apariţia punţii disulfurice sub forma:



În fig. 47 este prezentat modul de combinare a polipeptidelor prin punţi disulfurice.

În sfîrşit, este posibil ca lanţurile polipeptidice să se unească prin legături esterice. Este vorba de oxiaminoacizi, la care unul sau cîţiva atomi de hidrogen din radicalul aminoacidului sînt înlocuiţi cu hidroxili (OH), cu aşa-numitele funcţii alcoolice. În cazul legăturii esterice gruparea alcoolică a oxiaminoacidului unui polipeptid se combină cu gruparea carboxilică liberă a unui aminoacid din alt lanţ polipeptidic.

În prezent se pot identifica fără dificultăţi deosebite aminoacizii care intră în structura unei molecule de proteină. Laboratoarele de chimie sînt înzestrate azi cu aparate automate de dimensiuni reduse, care după 24 de ore de la intro-

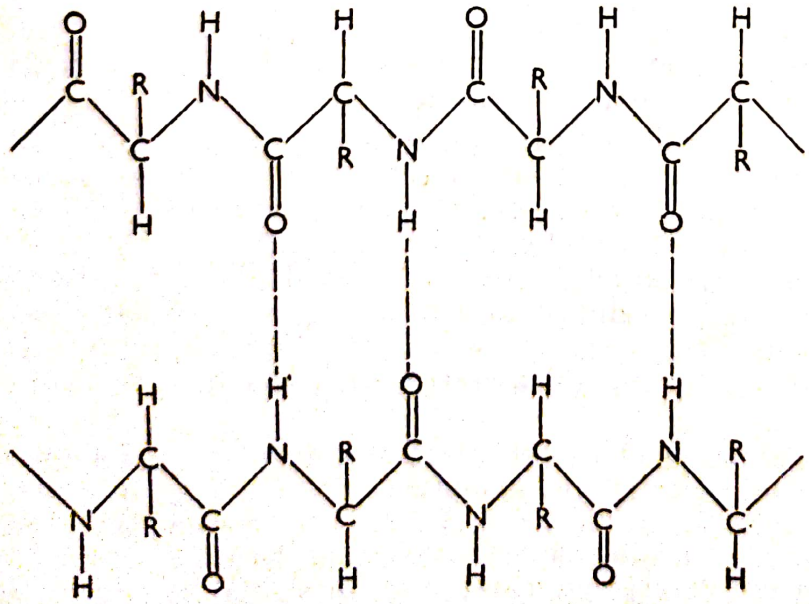


Fig. 46. Legarea a două lanţuri polipeptidice prin punţi de hidrogen, reprezentate prin linii întrerupte

puntea de hidrogen

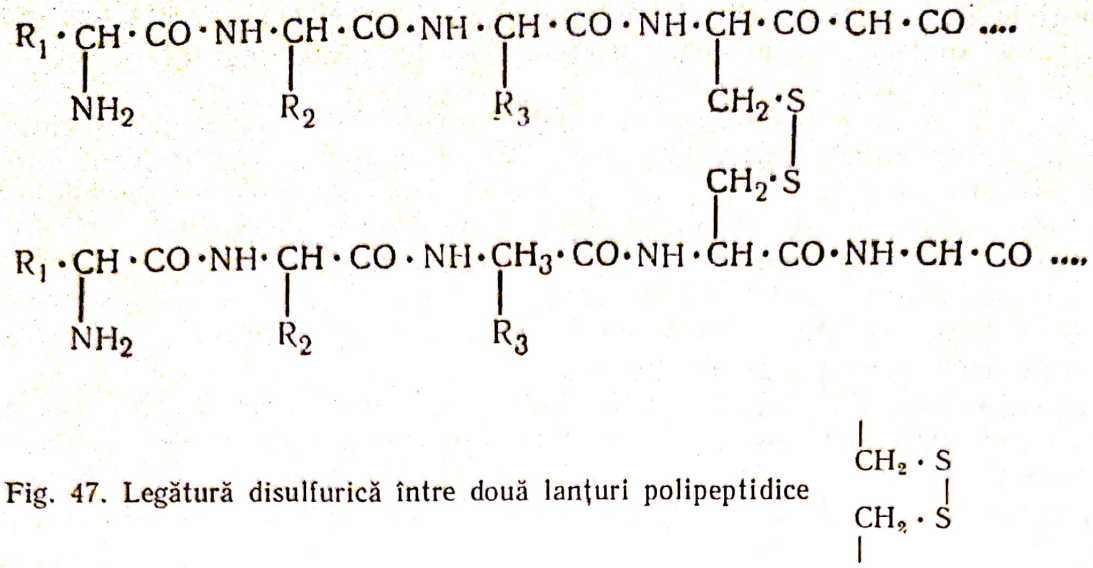


Fig. 47. Legătură disulfurică între două lanțuri polipeptidice

ducerea proteinei hidrolizate înregistrează pe un grafic cantitățile absolute ale diferiților aminoacizi.

Totuși, problema ordinii în care se succed aminoacizii în molecula unei proteine este greu de rezolvat. În momentul de față poziția pe care o ocupă aminoacizii unul față de celălalt în interiorul polipeptidelor a fost descifrată numai pentru cîteva proteine. Se poate cita ca exemplu descifrarea structurii moleculei de insulină, un hormon pancreatic a cărui lipsă în organism provoacă diabetul zaharat. În această boală glucidele nu sînt asimilate, ci se elimină prin urină sub formă de glucoză.

S-a constatat că molecula de insulină este compusă din două lanțuri polipeptidice. Unul din aceste lanțuri (I) conține 30 de aminoacizi, iar al doilea (II)—21, (fig. 48). Datorită prezenței a șase molecule de cisteină (două în catena I și patru în catena II) aceste două polipeptide sînt legate între ele prin două punți disulfurice, din care una în poziția 7 în ambele catene, iar a doua — în poziția 19 în catena I și în poziția 20 în catena II. În afară de aceasta, în catena II există o punte disulfurică intracatenară (între pozițiile 6—11) prin care se formează un ciclu din 20 de atomi.

Rolul cel mai important în procesul de sinteză a proteinelor în organism îl au enzimele, care sînt molecule de proteine complexe.

În prezent este pe deplin descifrată secvența aminoacizilor în molecula mai multor enzime. Un prim exemplu de acest gen îl constituie descifrarea structurii ribonucleazei, o enzimă ce catalizează hidroliza acidului ribonucleic (ARN). Această enzimă conține un lanț polipeptidic compus din 124 de aminoacizi. Catena mai sus menționată prezintă un fel de structură spațială datorită existenței a patru punți disulfurice care reprezintă legăturile sulfurice dintre opt molecule de cisteină (fig. 10). Pentru ribonuclează, ca și pentru insulină, a fost stabilit tabloul complet al ordinii în care sînt așezați aminoacizii în lanțul polipeptidic.

Totuși, specificul biologic al proteinelor nu este legat numai de secvența aminoacizilor în polipeptide, ci și de prezența unei anumite structuri tridimensionale, adică a structurii spațiale a moleculei proteice. Analiza structurală făcută cu radiații X a permis construirea pentru o serie de molecule proteice a unui model spațial al structurii lor. În fig. 49 este prezentat modelul spațial al structurii

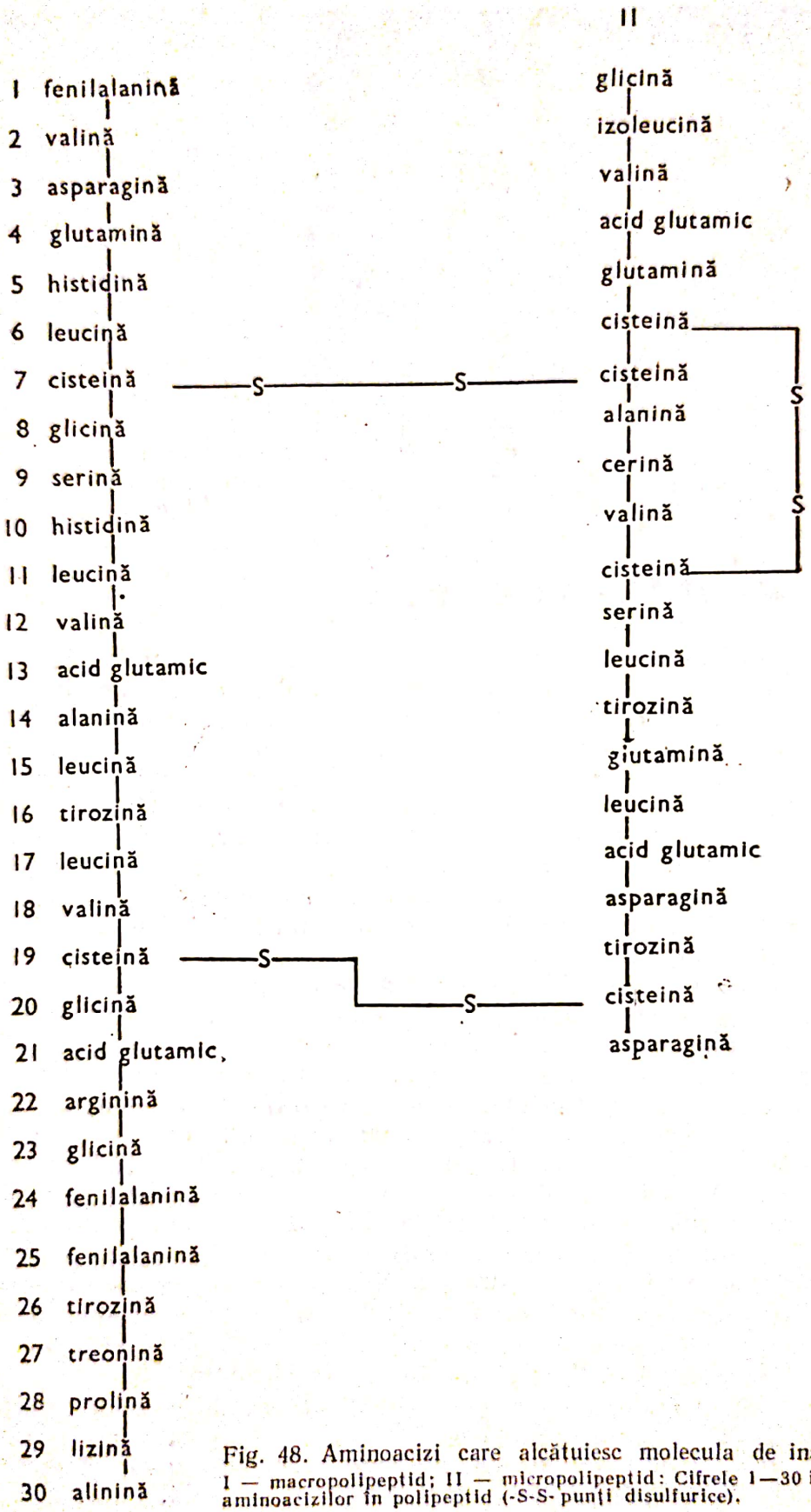


Fig. 48. Aminoacizi care alcătuiesc molecula de insulină:
I — macropolipeptid; II — micropolipeptid: Cifrele 1—30 indică poziţiile aminoacizilor în polipeptid (-S-S- punţi disulfurice).

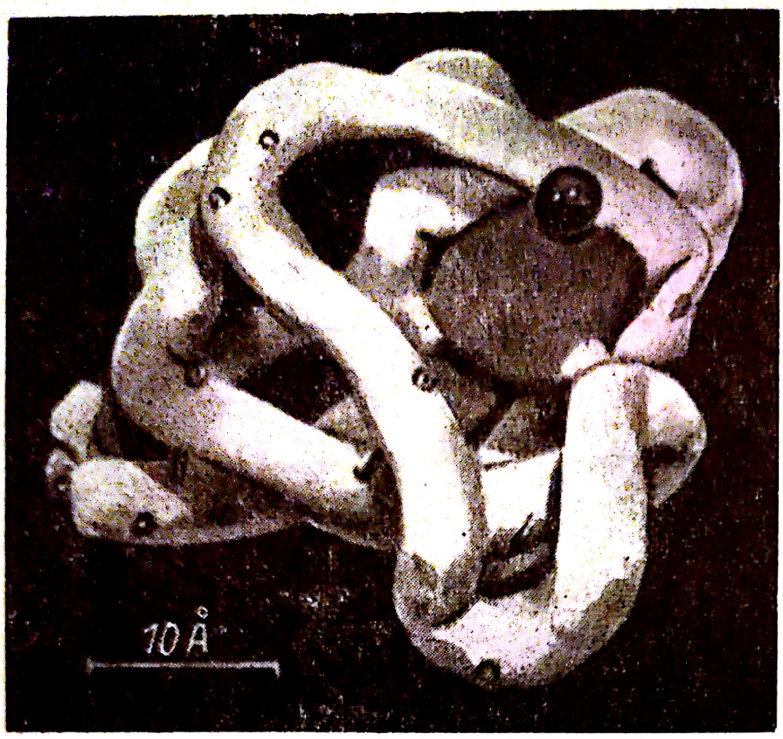


Fig. 49. Molecula de mioglobină. Reconstrucție.

moleculei hemoglobinei din mușchi, a mioglobinei. Însemnătatea tuturor particularităților structurii spațiale a proteinei nu a fost încă lămurită. Totuși se poate afirma că una din particularitățile esențiale ale acestei structuri o constituie formarea așa-numitului centru activ al moleculei proteinei. Existența unui asemenea centru în molecula proteinelor este confirmată de faptul că funcția catalitică a unei molecule de enzimă, funcția endocrină a unei serii de hormoni și funcțiunea imunologică a antigenelor sînt concentrate într-o porțiune limitată a moleculei proteinelor corespunzătoare. Folosind ca exemplu structura mioglobinei (fig. 49) vedem că datorită unor sinuozități capricioase ale lanțului polipeptidic al acestei proteine resturile aminoacizilor aflați la o mare distanță unul de celălalt de-a lungul lanțului se pot apropia intrînd în interacțiune.

Legătura dintre modificarea configurației moleculei și activitatea ei biologică reiese din exemplul transformării tripsinogenului, care reprezintă o formă inactivă a unui ferment digestiv, în tripsină, adică într-un ferment proteolitic activ.

Luînd ca bază datele existente, care sînt încă departe de a fi elucidat întreaga structură a moleculei de tripsinogen, se poate da o imagine schematică a structurii acestei molecule (fig. 50).

Din figură se poate vedea că o parte din molecula tripsinogenului este răsucită în așa fel încît formează un mare inel, încheiat prin puntea disulfurică. În mijlocul părții exterioare a acestui inel se află un rest de serină. Forma întregii molecule este determinată de legăturile de hidrogen care se stabilesc între capetele ei și de prezența punții disulfurice în apropierea mijlocului curbat al moleculei.

S-a constatat că procesul de activare, adică de transformare a tripsinogenului în tripsină activă se datorește modificării configurației spațiale a moleculei acestei proteine. Modificarea structurii spațiale se produce prin separarea segmentului hexapeptidic terminal, adică a acelui segment compus din șase aminoacizi (valină, patru molecule de asparagină și lizină). O parte din molecula mai înainte alungită (vezi fig. 50) se spiralează după desfacerea segmentului terminal hexapeptidic. Ca urmare, aminoacizii histidina și serina, care anterior se aflau departe unul de celălalt, se apropie în structura nouă și creează un „centru" activ din punct de vedere biologic, adică „miezul" moleculei.

După cum am arătat în repetate rînduri, sinteza proteinelor specifice este programată de informația genetică înscrisă în structura moleculară a ADN-ului. Totuși prin analiza unor mecanisme concrete de sinteză a proteinelor au fost obținute unele date suplimentare. Între altele s-a constatat că această sinteză

Scanned with OKEN Scanner

nu se află sub controlul direct al moleculelor de ADN, iar procesele de creştere şi înmulţire la bacterii sînt în directă legătură cu activitatea ARN-ului. Astfel, dacă bacteriile şi virusurile sînt cultivate pe medii speciale, nucleotidele naturale pot fi înlocuite prin analogi sintetici ai purinelor şi pirimidinelor, cum sînt tiouracilul, 8-azaguanina şi altele. Introducerea acestor baze artificiale în compoziţia moleculelor de ARN din virusuri sau în compoziţia ARN-ului din celula bacteriană inhibă, sau chiar opreşte, înmulţirea virusurilor, cît şi creşterea celulelor bacteriene.

Noile metode de centrifugare au permis separarea elementelor componente ale protoplasmei celulelor distruse. La început, chiar la viteze mici de centrifugare, se sedimentează nucleele care sînt componenţii cei mai grei ai celulelor. O dată cu creşterea vitezei de centrifugare se separă mitocondriile, care reprezintă particule abia vizibile la microscopul optic. Apoi, la viteze mai mari se sedimentează granulele cele mai fine, care nu sînt vizibile la microscopul optic. Aceste particule submicroscopice au căpătat denumirea de ribosomi (fig. 3). Analiza chimică a arătat că ribosomii sînt compuşi din ARN şi proteină. Experienţele au dovedit că în ribosomi se produce sinteza moleculelor noi de proteină. Acum este evident că sinteza masivă de proteine din celulă se realizează în ribosomi. În nucleu şi în mitocondrii se sintetizează probabil un număr mic de proteine speciale.

S-a stabilit experimental că dacă unei cantităţi de ribosomi i se adaugă ribonuclează, care distruge moleculele de ARN, sinteza proteinei încetează imediat. Dacă i se adaugă după aceea o cantitate nouă de ARN integru, sinteza reîncepe.

În mecanismul sintezei proteinelor trebuie să distingem patru procese principale: sinteza unităţilor de bază, a aminoacizilor; transportul aminoacizilor la locul unde se construieşte molecula de proteină: aşezarea într-o anumită ordine a aminoacizilor, aşezare specifică pentru fiecare polipeptid şi unirea lor într-un lanţ prin formarea legăturilor peptidice; dobîndirea de către moleculă a unei anumite configuraţii tridimensionale specifice pentru proteina dată, adică dobîndirea structurii spaţiale.

Sinteza iniţială a aminoacizilor în sistemul chimic al metabolismului se desfăşoară în celulele celor mai diferite specii de microorganisme, plante şi animale. Această sinteză a aminoacizilor are baze genetice stricte. După cum vom vedea în cele ce urmează, acţiunea unor întregi complexe de enzime genetic specifice determină succesiunea etapelor de sinteză a aminoacizilor.

Sinteza aminoacizilor are loc în primul rînd în mitocondrii. Această sinteză este legată de procesele fundamentale din sistemul chimic al metabolismului celular, procese reprezentate de ciclul acizilor organici di- şi tricarbonilici (ci-

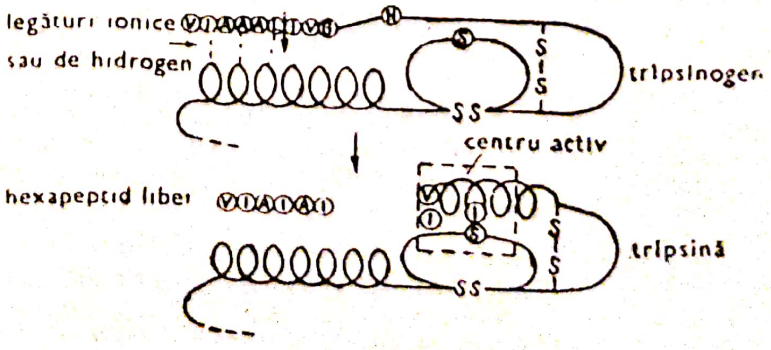


Fig. 50. Molecula de tripsinogen:
A — asparagină, *G* — glicocol, *H* — histidină, *I* — izoleucină, *L* — lizină, *S* — serină, *V* — valină

clul lui Krebs). Prin acest ciclu legat de transportul hidrogenului și fosforilarea oxidativă se realizează sinteza, transformarea și degradarea aminoacizilor, formarea glucidelor, sinteza substanțelor celulare azotate specifice etc. În mitocondrii se află întregul complex de enzime care catalizează toate reacțiile din ciclul lui Krebs.

Trebuie menționat că animalele au pierdut capacitatea de a sintetiza o serie de aminoacizi (tabelele 3 și 4) pe care-i primesc o dată cu hrana. Astfel, citoplasma celulei oricărui organism, sintetizînd toți aminoacizii sau primind o parte din ei o dată cu hrana, posedă în rezervele sale toți cei 20 de aminoacizi necesari pentru construirea diferitelor molecule de proteină.

Am arătat mai sus că sinteza proteinelor are loc în ribosomi. Prin urmare, aminoacizii care se află în hialoplasmă (partea nestructurată a citoplasmei) sub formă de rezervă trebuie să ajungă în ribosomi *. Totodată s-a constatat că aminoacizii sînt transportați în ribosomi într-o stare specială, așa-numita stare activată, ceea ce mărește simțitor capacitatea lor de reacție. Această activare a aminoacizilor se datorește unei enzime specifice care pune în libertate energia înmagazinată în legăturile macroergice ale acidului adenozintrifosforic (ATP). Transmiterea energiei de la moleculele de ATP se face ca și în cazul activării nucleozidelor, caz pe care l-am examinat mai sus, atunci cînd am analizat mecanismul de autoreproducere a moleculelor de ADN.

Enzima, acidul adenozintrifosforic și aminoacidul formează un singur complex (fig. 51). În aceste condiții are loc reacția dintre ATP și aminoacid: din ATP se desprinde pirofosfatul, adică o catenă scurtă formată din două molecule de acid fosforic, iar restul de ATP, adică AMP (acidul adenozinmonofosforic = acidul adenilic), se leagă prin intermediul grupării fosforice de gruparea carboxilică a aminoacidului. În urma scindării moleculei de ATP între a doua și a treia moleculă de acid fosforic întreaga rezervă de energie aflată în această legătură macroergică este cedată aminoacidului care, datorită acestui fapt, ajunge la un nivel energetic superior, dobîndind o mare capacitate reactivă **.

Cercetarea enzimelor care activează aminoacizii a relevat marea lor diversitate. S-a dovedit că aceste enzime pot fi separate din hialoplasmă prin precipitarea lor cu alcool la pH=5 (adică în condițiile unei reacții slab acide a mediului). Acest precipitat a fost denumit fracțiunea pH=5. S-a constatat că prin intermediul acestei fracțiuni activarea aminoacizilor poate fi realizată *in vitro*.

Pentru activarea fiecărui aminoacid în parte este nevoie de o enzimă specială. Mai întîi pH5-enzimele au fost izolate din celulele bacteriilor și levurilor, iar ulterior din toate țesuturile studiate ale animalelor și plantelor. Aceasta dovedește că activarea aminoacizilor constituie unul din mecanismele celulare de bază, care se desfășoară în general la fel în toată lumea vie.

Transportul aminoacidului activat în ribosom, unde are loc sinteza moleculelor de proteină, este realizat de către un tip special de ARN. Acest ARN nu

---

* Hialoplasma este protoplasma care apare nestructurată cînd este examinată cu microscopul optic. La microscopul electronic, hialoplasma apare structurată, formată din reticulul endoplasmatic: canalicule limitate de membrane plasmatice care închid plasma matricială, un gel în ochiurile căruia se găsesc aminoacizii liberi. Ribosomii fac și ei parte din structura hialoplasmei care este citoplasma nediferențiată. Ribosomii se găsesc de-a lungul membranelor plasmatice. — *N.R.*

** Activarea aminoacizilor se face sub formă de adenilat aminoacilic:

$$\underset{\text{ATP}}{\text{Ad—P}\sim\text{P}\sim\text{P}} + \text{aminoacid} \rightarrow \underset{\text{adenilat}}{\text{Ad—P}\sim\text{aminoacid}} + \underset{\text{pirofosfat}}{\text{P}\sim\text{P}}$$

Ad = adenozină (adenină + riboză). — *N.R.*

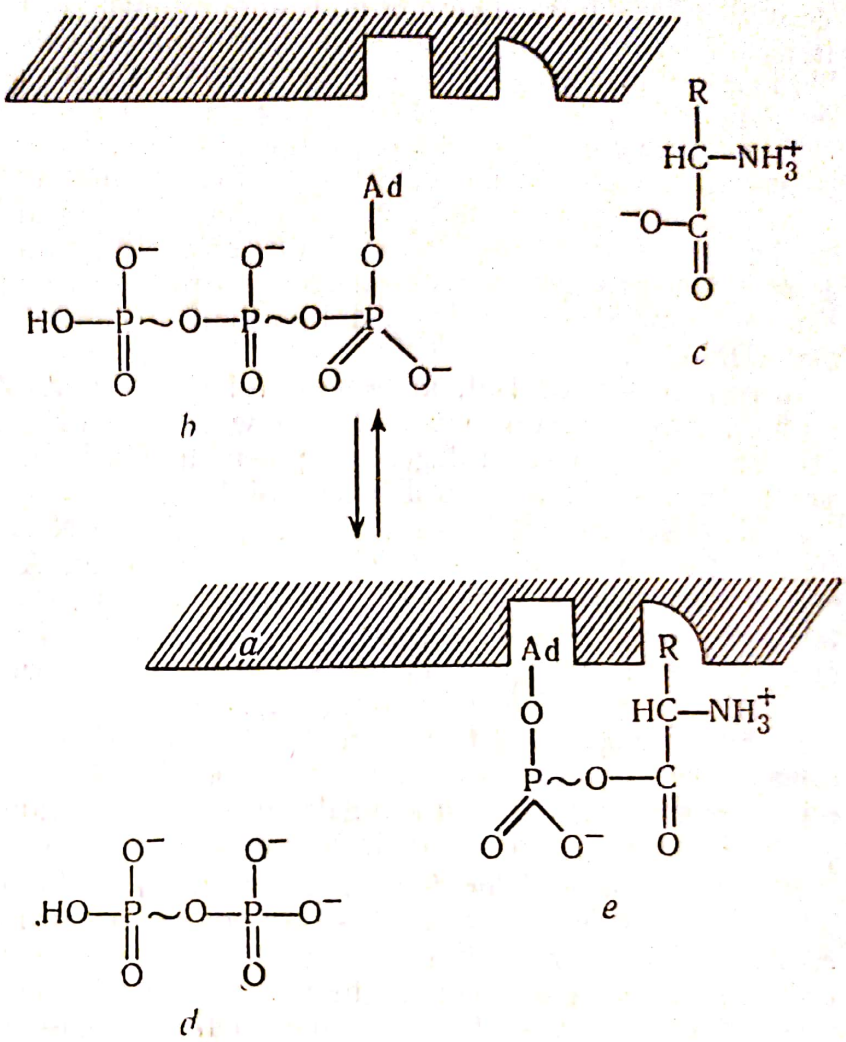


Fig. 51. Activarea aminoacizilor:
a — molecula enzimei; *b* — acidul adenozintrifosforic (Ad-adenozină); *c* — molecula aminoacidului; *d* — pirofosfatul scindat; *e* — activarea aminoacidului.

este legat de elementele structurale ale celulei, ci se află în stare dizolvată în hialoplasmă și de aceea poartă numele de ARN-solubil sau prescurtat ARN-s.

Constituirea legăturii dintre moleculele de ARN-s și aminoacid este asigurată de aceleași pH5 — enzime cărora li se datorește și activarea aminoacidului din ATP. Prin combinarea temporară a aminoacidului cu ARN-s, aminoacidul activat pierde legătura cu acidul adenozinmonofosforic și formează o legătură cu molecula de ARN. Totodată enzima și acidul adenozinmonofosforic * sînt puse în libertate și pot începe din nou ciclul de activare al unui aminoacid.

Care sînt proprietățile de bază ale ARN-s, acest vector al moleculelor de aminoacizi în ribosomi, adică în locul unde se produce sinteza moleculelor proteice? Se știe că el se găsește de obicei în „fracțiunea pH5", adică precipită o dată cu enzimele activante.

În celulă au fost descoperite două tipuri de ARN nativ net deosebite între ele. 1) ARN-macropolimer, care este legat de o proteină sub formă de ribonucleoproteid cu masă moleculară de 1,5—2 milioane și care conține 4 000—6 000

* Acidul adenozinmonofosforic sau adenilic (AMP) este retransformat în ATP (acid adenozintrifosforic) prin două fosforilări consecutive:

$$\underset{\text{AMP}}{\text{Ad—P}} + \text{fosfat} \rightarrow \underset{\text{ADP}}{\text{Ad—P\sim P}} + \text{fosfat} \rightarrow \underset{\text{ATP}}{\text{Ad—P\sim P\sim P}}$$

— *N.R.*

de nucleotide; 2) ARN care se găsește în citoplasmă în stare liberă și se caracterizează printr-o masă moleculară de 10 000—40 000 (ARN-s).

În ceea ce privește structura generală a moleculelor de ARN, ea diferă esențial de structura moleculelor de ADN. După cum am arătat mai sus, moleculele de ADN se compun din două filamente spiralate. Totuși această structură nu este constantă. În perioadele de autoreproducere, moleculele de ADN se desfac în două structuri monocatenare. Nu este exclus ca transmiterea informației genetice să fie legată de acțiunea uneia dintre catenele polinucleotidului, în timp ce a doua catenă este genetic inertă. Am analizat această problemă atunci cînd am studiat forma de înregistrare a informației genetice în structurile moleculare ale ADN-ului.

În ce privește ARN-ul, moleculele lui sînt formate dintr-un singur lanț nerămificat. Pentru activitatea biologică se cere ca întregul lanț al moleculei respective să-și păstreze integritatea; pentru pierderea activității biologice este suficientă o singură ruptură a acestui lanț.

Analiza specificității diferitelor forme de ARN-solubil a arătat că pentru fiecare din cei 20 de aminoacizi este necesar un ARN-s propriu. Citoplasma celulei conține deci 20 de ARN-s diferiți. Moleculele de ARN-solubil, transportoare ale moleculelor de aminoacid, se caracterizează prin structura precis determinată a ambelor capete ale moleculei, și anume printr-o anumită secvență a nucleotidelor purinice și pirimidinice. O asemenea caracteristică a capetelor moleculei este specifică tuturor moleculelor de ARN-s. Aceasta arată că proprietatea moleculelor de ARN-s de a se combina tocmai cu aminoacidul specific este asigurată de particularitățile interne ale componenței nucleotidice, cît și de secvența nucleotidelor de-a lungul lanțului molecular.

Biosinteza moleculelor de proteină specifică are loc în ribosomi. Aici moleculele de ARN-s transportă diferiți aminoacizi. Pentru a se transforma în moleculă de proteină, zeci și sute de aminoacizi trebuie să se așeze într-o anumită ordine și apoi să se combine în polipeptide. Formarea moleculei de proteină specifică dintr-un complex de aminocizi liberi poate fi realizată numai pe calea unui proces dirijat. Această sinteză este programată. Programul este necesar pentru repartizarea aminoacizilor în secvența proprie proteinei specifice date. În acest proces nu se admite nici o eroare. Repartizarea aminoacizilor se desfășoară cu o mare precizie. S-a dovedit că în unele cazuri este suficientă așezarea greșită a unui singur aminoacid pentru ca activitatea biologică a proteinei să fie cu totul alterată. Acest proces de formare a moleculei de proteină din diferiți aminoacizi liberi se repetă într-un număr infinit în organismul dat. El este caracteristic întregii istorii a speciei; mai mult decît atît, pentru unele proteine el s-a desfășurat în decursul întregii istorii a vieții.

În ce constă dispozitivul de programare din celulă, datorită căruia se obține formarea atît de complexă a moleculelor de proteină specifică în ribosomi? Ne găsim în fața uneia din principalele enigme ale vieții, și anume în fața capacității de a sintetiza proteinele specifice. Pe această bază se reproduce într-o serie de generații un tip asemănător de metabolism, ceea ce reprezintă esența fenomenului de ereditate, adică reproducerea de-a lungul generațiilor a unor funcții și structuri asemănătoare ale organismelor.

Această problemă capitală a geneticii, biochimiei și biologiei a fost rezolvată, în ansamblu, în ultimul timp. S-a constatat că specificul modului de dirijare a sintezei proteinelor care are loc în structurile citoplasmei, în ribosomi, trebuie căutat în organizarea moleculară a ADN-ului din cromosomii celulei.

Scanned with OKEN Scanner

În esență, ribosomii se compun dintr-un ribonucleoproteid care conține 50% proteină și 50% ARN. Diametrul ribosomilor este de 100—200 Å. Există patru tipuri principale de ribosomi. Aceste deosebiri se stabilesc în funcție de viteza de sedimentare la centrifugare (S = mărimea sedimentării). Ribosomii mari sînt de 100 S, urmează apoi ribosomii de 70, 50 și 30 S. Experiențele cu aminoacizi marcați au arătat că principalul sediu al sintezei proteinei îl constituie ribosomii 70 S și, probabil, agregatele de ribosomi.

Deoarece sinteza proteinei se realizează sub controlul direct al moleculelor specifice de ARN, informația genetică înregistrată în moleculele de ADN se transmite într-un fel oarecare moleculelor corespunzătoare de ARN. Înregistrarea oricărei informații biochimice își găsește expresia materială în specificul structurii chimice a moleculei corespunzătoare.

Structura chimică a moleculelor de ADN conține codul pentru sinteza proteinelor sub forma de secvență specifică a celor patru nucleotide. Acest cod trebuie să fie transmis moleculelor de ARN. Formarea moleculelor de ARN care primesc codul de la moleculele de ADN poate avea loc numai în timpul sintezei lor, cînd structura moleculară și în primul rînd ordinea de așezare a nucleotidelor de-a lungul catenei polinucleotidului, caracteristică pentru ADN-ul dat, pot fi transmise de ARN. Această transmitere a informației genetice este condiționată de sinteza moleculelor de ARN realizată pe moleculele de ADN care joacă rolul de matriță, datorită căruia fapt secvența nucleotidelor în molecula de ARN în curs de sinteză va oglindi secvența lor caracteristică în moleculele-matriță de ADN.

Moleculele de ADN pot juca rol de matriță numai atunci cînd ele se află în stare monocatenară. Această stare determină capacitatea ADN-ului de a se autoreproduce, deoarece tocmai polinucleotidul monocatenar construiește alături de el un lanț complementar de polinucleotide. Acest proces de autoreproducere a moleculelor de ADN se bazează pe autocataliză. Transmiterea informației de la ADN la moleculele de ARN cere construirea pe bază de matriță a unei molecule asemănătoare, dar totuși net deosebite.

Formarea unui singur lanț se obține prin derularea dublei molecule a ADN și scindarea ei în două lanțuri separate. În funcție de condițiile existente, a căror esență fizică și chimică nu ne este încă destul de clară, polinucleotidul monocatenar duce în unele cazuri la autocataliză prin replicare matricială, construind alături un polinucleotid complementar de ADN monocatenar. Totuși, în alte cazuri, același polinucleotid de ADN monocatenar provoacă prin matriță o cataliză eterogenă, construind alături de el un polinucleotid complementar de ARN monocatenar. În figurile 52 și 53 este prezentată schema unei asemenea sinteze. Dubla moleculă de ADN se scindează treptat în două polinucleotide monocatenare. Luînd ca exemplu una din ele, s-a demonstrat acțiunea forțelor de atracție complementară. Nucleotidele sînt atrase din citoplasmă și se depun în secvențe caracteristice pentru lanțul polinucleotidic de ADN.

În ce privește compoziția chimică a nucleotidelor din ARN, acestea, spre deosebire de cele din ADN, conțin riboză în loc de 2-dezoxiriboză. În acest caz o caracteristică foarte importantă a catalizei eterogene este modificarea capacității de atracție complementară a nucleotidului adenilic din lanțul polinucleotidic de ADN. Pe cînd în autoreproducerea moleculelor acest nucleotid atrage nucleotidul complementar — timina — în cataliza eterogenă pe bază de matriță, același nucleotid atrage uracilul, care intră în structura moleculelor de ARN. Cînd nucleotidele (A U G C) sînt așezate într-o anumită ordine de-a lungul lanțului polinucleotidic de ARN, se produce închiderea legăturilor prin moleculele de

Scanned with OKEN Scanner

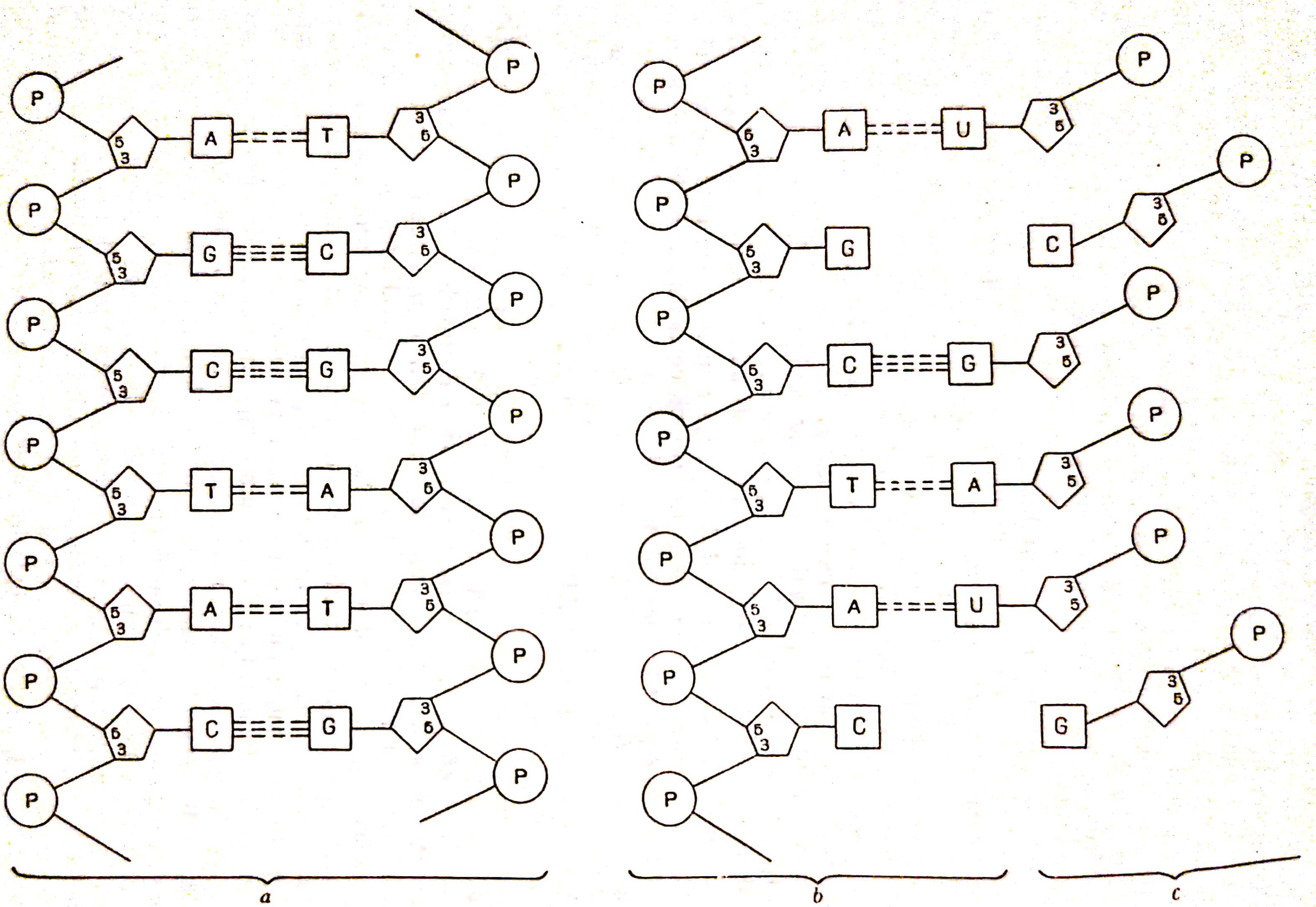


Fig. 52. Sinteza prin cataliza eterogenă matricială a moleculelor de ARN pe nucleotidul monocatenar de ADN.
Scindarea moleculei de ADN în două lanțuri polinucleotidice și atracția complementară a nucleotidelor. Schema I: *a* — molecula dublă de ADN; *b* — polinucleotidul ADN monocatenar; *c* — nucleotidul adenilic în lanțul de ADN atrage din citoplasmă nucleotidul uridilic, propriu moleculei de ARN.

Scanned with OKEN Scanner

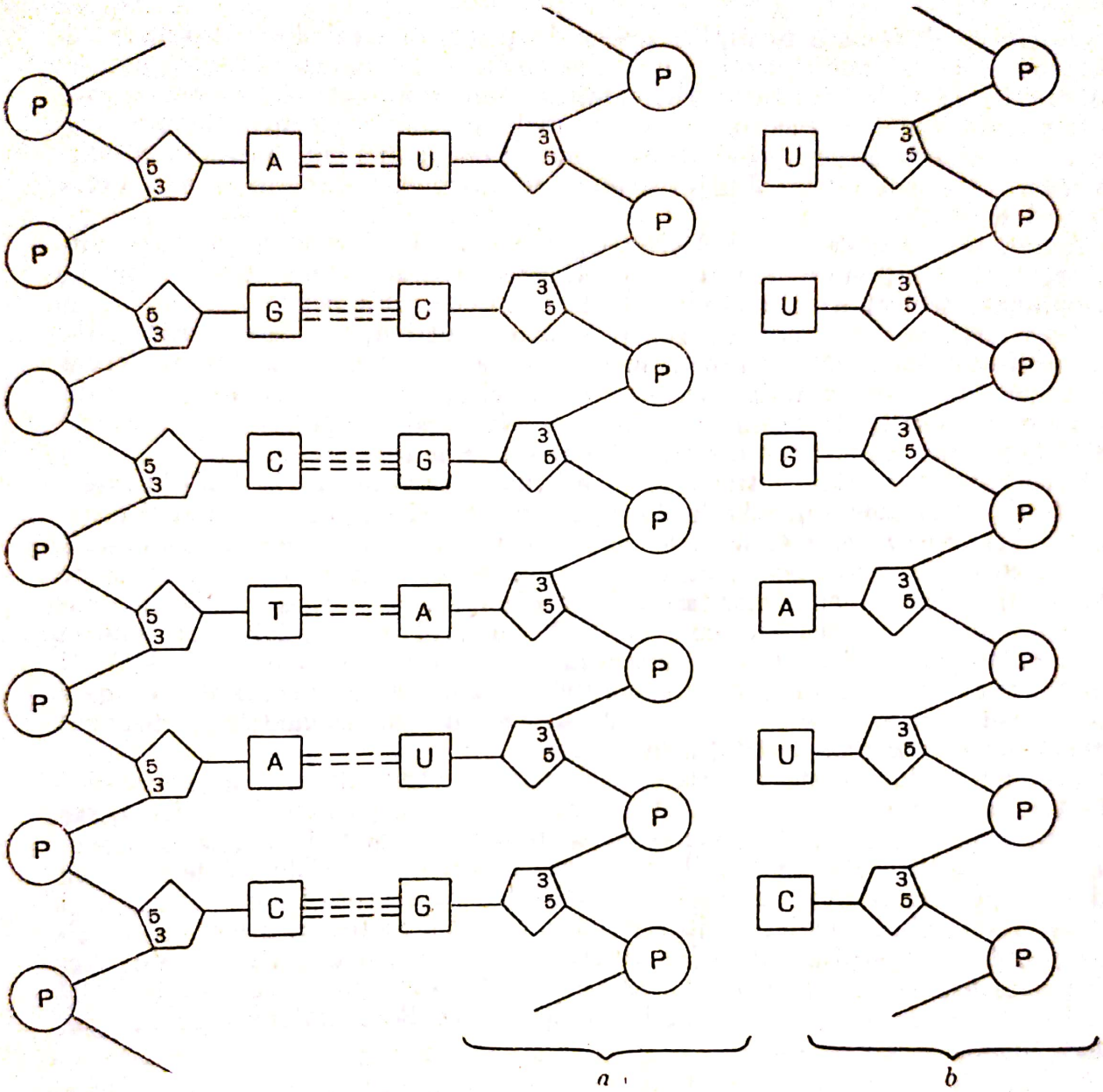


Fig. 53. Sinteza prin cataliza eterogenă matricială a moleculelor de ARN pe polinucleotidul monocatenar de ADN. Schema II:

a — polimerizarea polinucleotidelor ARN-ului în ordine complementară în concordanță cu așezarea nucleotidelor în polinucleotidul-matriță de ADN; *b* — molecula liberă de ARN care preia informația genetică de la polinucleotidul-matriță ADN.

acid fosforic și se formează molecula de ARN monocatenară. Această polimerizare a nucleotidelor în molecula de ARN se produce sub acțiunea unei enzime specifice deosebite, căreia i s-a dat denumirea de polinucleotid-fosforilază. În consecință, cataliza eterogenă matricială a polinucleotidului monocatenar de ADN duce la sinteza moleculei de ARN cu o masă moleculară mult mai mică, cu deosebiri evidente în compoziția chimică, cu proprietăți fizice și chimice deosebite și cu un specific biologic foarte pregnant.

Numărul de nucleotide dintr-un lanț de ADN ajunge la 30 000, iar numărul lor într-o moleculă de ARN adeseori abia atinge cifra 100. Deoarece cataliza

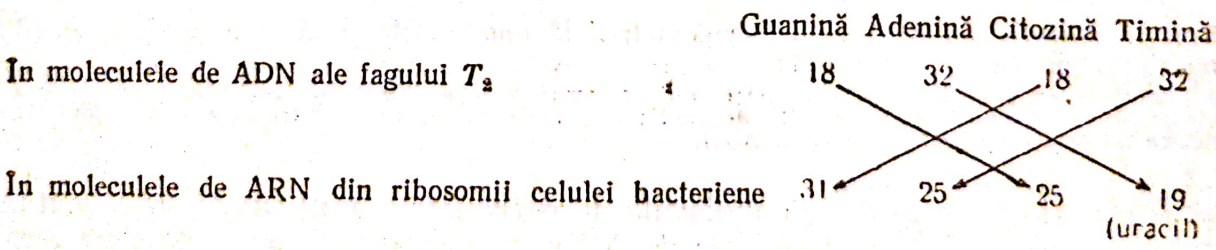
Scanned with OKEN Scanner

eterogenă se desfășoară în deplină concordanță cu numărul de nucleotide, este evident că lanțul polinucleotidic de ADN poate să sintetizeze un mare număr de diferite molecule de ARN prin cataliza eterogenă matricială de-a lungul întregii sale lungimi. Fiecare din aceste molecule oglindește în compoziția sa specificul chimic și genetic al unui anumit segment din lanțul polinucleotidic de ADN, segment format din tot atîtea nucleotide cîte intră în molecula respectivă de ADN.

Astfel, fiecare moleculă de ARN recepționează numai o anumită parte din întregul cod conținut în lanțul de ADN. Moleculele de ARN sintetizate trec în citoplasmă, se includ în ribosoni și dirijează sinteza proteinelor specifice. Toate acestea dovedesc că informația genetică înscrisă în lanțurile lungi, uriașe, ale polinucleotidului ADN se descompune în mii de cuvinte și sub această formă pătrunde în sistemul chimic foarte complex al citoplasmei, determinînd apariția proceselor diferențiate care duc la sinteza a mii de diferite proteine și în primul rînd la sinteza acelei imense diversități specifice de proteine-enzime.

O consecință esențială a transmiterii informației genetice de la ADN la moleculele de ARN este concordanța dintre compoziția chimică a informației genetice din ADN și aceea a moleculelor de ARN sintetizate pe calea catalizei eterogene matriciale. Într-adevăr, dacă fiecare nucleotid se include în molecula de ARN prin atracția complementară către nucleotidul pereche din ADN, în componența unor asemenea molecule de ARN numărul nucleotidelor care conțin guanina trebuie să fie egal cu numărul nucleotidelor care în moleculele de ADN conțin citozina. Cantitatea de citozină trebuie să fie egală cu cantitatea de guanină, cantitatea de adenină — cu cantitatea de timină, iar cantitatea de uracil trebuie să corespundă cantității de adenină.

Pornind de la această ipoteză, s-a studiat structura chimică a moleculelor de ARN din citoplasmă. Am văzut mai sus că după ce particulele de fag ajung în celula bacteriană, sistemul acesteia se restructurează și începe sinteza proteinelor specifice ale fagului. Prin urmare, în acest timp sistemul de comandă al ARN-ului va fi creat sub acțiunea ADN-ului fagic. Totuși analiza structurii chimice a ARN-ului inclus în ribosomii bacteriei n-a confirmat așteptata coincidență între compoziția ARN-ului din ribosomi și aceea a ADN-ului din fag. Cifrele ce urmează (în procente) caracterizează structura nucleotidelor din ADN și ARN mai sus menționate: săgețile indică perechile complementare de baze care trebuie să corespundă.



S-ar părea astfel că ajungem la o concluzie paradoxală. Moleculele de ARN din ribosomi, în care — după cum a rezultat din numeroase experiențe — se desfășoară sinteza proteinei nu corespund cerințelor absolut necesare pentru a realiza programarea în cazul construirii moleculelor proteinice. În ribosomi se găsesc acizi ribonucleici macromoleculari de două tipuri: unul din acești acizi are masa moleculară de 1 200 000—2 000 000, iar lanțurile lui conțin 4 000—6 000 nucleotide; al doilea acid ribonucleic are greutatea moleculară de

Scanned with OKEN Scanner

500 000—900 000 și lanțurile lui conțin 1 500—30 000 nucleotide. Din această cauză ARN-ul obișnuit din ribosomi nu asigură comanda sintezei proteinelor specifice. Cantitatea de ARN este mare și, spre deosebire de ADN care este stabil, variază considerabil în funcție de tipul de celule, felul țesutului, vîrsta și starea fiziologică a organismului.

ARN-ul din ribosomi se acumulează în punctele de creștere ale plantelor, în țesuturile embrionare ale animalelor și în alte țesături în care se desfășoară intens procese de înmulțire, creștere, secreție etc. În celulele bacteriene tinere, care se înmulțesc repede, ARN-ul ribosomic reprezintă 15—20% din greutatea lor uscată. Înainte de a trece în faza de înmulțire neobișnuit de rapidă, proprie lor, celulele bacteriene suferă o inhibiție a creșterii pentru 10 ore, timp în care în interiorul lor au loc modificări pregătitoare. Această oprire a creșterii a căpătat denumirea de fază de lag. S-a constatat că în timpul acestei faze ARN-ul consumat într-o perioadă anterioară de înmulțire intensă se sintetizează din nou, cu rapiditate, în celule. Cînd gradul de saturație a celulelor cu moleculele de ARN a ajuns la un nivel determinant, celula bacteriană intră în faza de înmulțire intensă. Toate aceste fapte dovedesc că ARN-ul macromolecular din ribosomi este legat într-un anumit fel de fiziologia biosintezei proteinelor; nu se știe totuși în ce constă această legătură. Este clar că ARN-ul macromolecular din ribosomi nu programează sinteza moleculelor de proteină, nu dispune de informația genetică specifică pe care moleculele de ADN o transmit moleculelor de ARN în procesul sintezei lor.

O stare deosebită a ARN-ului în celule este ARN-ul solubil. Acest ARN-s are o masă moleculară de 10 000—40 000 și conține numai 60—100 de nucleotide.

Totuși, după cum am văzut, funcția acestei fracțiuni a ARN-ului este foarte specifică; ea are sarcina de a transporta aminoacizii activați cu rezerva lor de energie chimică la ribosomi, unde are loc cataliza eterogenă a proteinelor pe matriță.

Compoziția chimică identică a ARN-ului macromolecular ribosomic și a ARN-ului solubil arată că nici ARN-ul solubil nu poate servi ca program pentru cataliza eterogenă matricială a proteinelor în ribosomi. Ca și ARN-ul din ribosomi ARN-ul solubil nu oglindește specificul compoziției chimice a moleculelor genetice de ADN. În afară de aceasta, moleculele de ARN-s, fiind destinate unei funcții specializate, au o structură chimică specială. S-a constatat că toate moleculele de ARN-s, indiferent de felul celulelor din care au fost izolate, se caracterizează prin grupări terminale identice. După cum am mai spus, ele au la un capăt nucleotidul guanilic, iar la celălalt nucleotidul adenilic (fig. 54). În afară de aceasta la capătul adenilic urmează întotdeauna, după adenina terminală, două resturi citidilice. Această structură cu capăt adenilic din moleculele de ARN-s sub formă de CCA este universală. Astfel, moleculele de ARN-s care joacă rolul unui transportor specific al aminoacizilor activați la locul unde se produce sinteza proteinei nu dispun nici ele de specificitatea genetică necesară pentru a realiza programarea sintezei moleculelor de proteină.

Se pune întrebarea: care din fracțiunile ARN-ului celular manifestă aceste funcții. Problema a fost rezolvată în anul 1961, după ce s-a descoperit existența unui tip special de ARN care preia informația genetică de la moleculele de ADN și o transmite la locul unde se realizează sinteza proteinei. Acest tip de ARN a căpătat denumirea de ARN de informație sau ARN-i *. Tocmai acest fel de

* Sau ARN-mesager = ARN-m. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

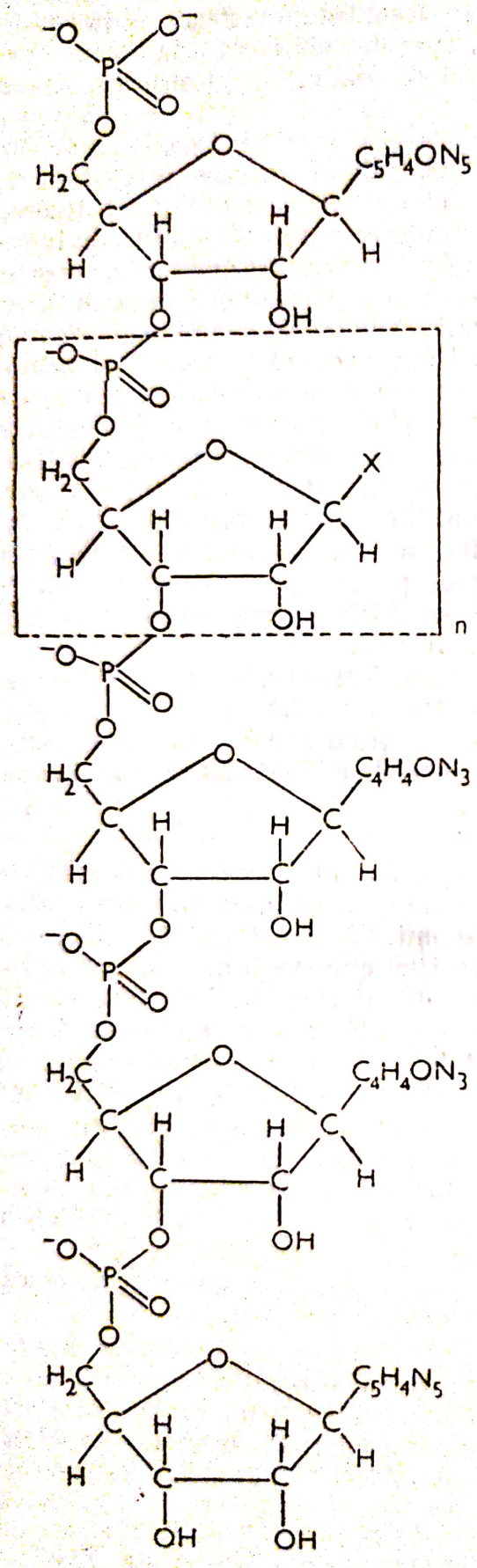


Fig. 54. Structura lanțului de ARN-s cu nucleotizii terminali caracteristici. Prin linii întrerupte a fost încadrată partea din mijloc a moleculei care conține 50—100 de nucleotide diferite.

Scanned with OKEN Scanner

molecule de ARN constituie structurile-matriță potrivit cărora se desfășoară sinteza catalitică eterogenă matricială a proteinei.

Noua fracțiune de ARN a fost descoperită prin experiențe făcute cu izotopi radioactivi. S-a constatat că în celulă se desfășoară o sinteză foarte rapidă a unui anumit ARN, depistat în celulele colibacilului, după ce au pătruns în ele fagi care au determinat apariția unei informații noi, aceasta din urmă declanșînd sinteza ADN-ului și a proteinelor fagului. În aceste condiții a fost descoperit un ARN care se sintetizează rapid și care s-a dovedit a fi identic ca structură cu ADN-ul fagic. Structura lor chimică are următorul aspect (în procente).

	Guanină	Adenină	Citozină	Timină
În moleculele de ADN ale fagului T_2	18	32	18	32
În moleculele de ARN-i din citoplasma bacteriană	20	35	18	29

Pentru a stabili localizarea noii fracțiuni de ARN în interiorul celulelor bacteriene, acestea au fost cultivate într-un mediu cu azot greu N^{15}. Ribosomii unor asemenea celule conțin ARN cu N^{15} și după introducerea fagului. Celulele în care a început sinteza proteinelor calitativ noi au fost introduse într-un mediu fără azot greu. S-a constatat că în ribosomii unor asemenea celule se găsește ARN cu N^{15}, adică ARN-ul vechi, specific celulei bacteriene. Dar, în afară de acesta, aceiași ribosomi conțineau și fracțiunea nouă de ARN cu azot nemarcat, recent sintetizată. Masa ei moleculară era de circa 500 000. Moleculele acestui ARN au viață scurtă. Legîndu-se de ribosomi, ele își îndeplinesc funcțiunea lor specifică (dirijarea sintezei proteinei potrivit comenzii transmise de ADN) și apoi se descompun în nucleotide care pătrund în citoplasmă și pot fi folosite din nou la sinteza moleculelor de acizi nucleici.

În experiența descrisă mai sus am văzut că ARN-ul obișnuit din ribosomi îndeplinește într-adevăr în sinteza proteinelor un rol fiziologic general nespecific. În celulele bacteriene, al căror metabolism este radical modificat sub influența ADN-ului fagului introdus în celule, sinteza proteinei fagice noi se desfășoară în ribosomii vechi, care conțin ARN-ul bacterian vechi. Totuși specificul acestei sinteze, adică cataliza eterogenă matricială, se realizează datorită comenzii primite de la ARN-ul de informație nou, în care se oglindește informația genetică specifică moleculelor de ADN fagic. Acest ARN-i nou reprezintă o parte neînsemnată din întregul ARN din ribosomi. După ce și-a îndeplinit rolul, el se separă de ribosomi. Se înțelege că ARN-i trebuie să fie eterogen din punct de vedere chimic, deoarece în moleculele lui se oglindește uriașa diversitate a cuvintelor informației genetice purtată de diferitele segmente ale polinucleotidului de ADN fagic.

Sursa de ARN-i care este uneori denumit și intermediar sau mesager, deoarece transmite semnalele de la moleculele genetice de ADN în ribosomi, la locul de sinteză a proteinei, o constituie cataliza eterogenă matricială pe moleculele de ADN.

Datele cu privire la concordanța dintre succesiunea și structura nucleotidelor în moleculele genetice de ADN și în moleculele de ARN-i au fost obținute în experiențele în care s-au descoperit moleculele „hibride" formate de lanțurile polinucleotidice de ADN genetic și cele de ARN-i.

Scanned with OKEN Scanner

Prin încălzire lentă moleculele duble de ADN se descompun în lanțurile polinucleotidice componente; are loc procesul de denaturare. În procesele de restaurare, adică de reconstituire a structurii duble a moleculelor de ADN, lanțurile polinucleotidice care se unesc trebuie negreșit să aparțină aceleiași molecule inițiale. Polinucleotidele care se unesc pot avea o origine diferită, dacă ele îndeplinesc condiția de bază care permite realizarea unei asemenea uniri. Aceste lanțuri trebuie să aibă compoziția și ordinea complementară a nucleotidelor. S-a constatat că polinucleotidele monocatenare ale moleculelor de ADN fagic se pot uni cu moleculele de ARN-i care au apărut în citoplasma celulei bacteriene ca rezultat al catalizei eterogene matriciale. Apariția moleculelor hibride de ARN/ADN a fost înregistrată prin experiențe în care aceste molecule au fost marcate cu izotopi diferiți. Moleculele de ARN-i care au apărut în celulele bacilului coli sub acțiunea moleculelor de ADN fagic au fost marcate prin introducerea fosforului radioactiv (P^{32}). În moleculele de ADN fagic a fost introdus tritiu (H^3) *. Moleculele hibride de ARN-i/ADN care s-au format în celulele bacteriene conțineau atît P^{32}, cît și H^3.

Descoperirea ARN-i a elucidat în mare măsură veriga cea mai importantă a metabolismului în fenomenele biologice, și anume procesele de sinteză a moletulelor de proteină. În afară de aceasta, originea și funcțiile moleculelor de ARN-i clarifică principiile de bază pe care se întemeiază transmiterea informației genetice de la moleculele de ADN în citoplasmă.

S-a dovedit rolul fundamental al moleculelor de ARN-i ** în dirijarea sintezei specifice a proteinelor. Pentru bacterii s-a constatat că numărul moleculelor de ARN-i din celulă nu este mare: 2—3% din cantitatea totală de ARN, iar greutatea lui moleculară este de 100 000—500 000—600 000. Moleculele de ARN-i sînt foarte eterogene din punctul de vedere al compoziției și al poziției nucleotidelor. Viața acestor molecule este foarte scurtă, de numai cîteva minute. Ele intră în legătură cu ribosomii de 70S, care participă la sinteza proteinei. Pentru sinteza unei molecule de proteină se consumă o moleculă de ARN-i (în sensul că molecula de ARN-i care a servit ca matriță se descompune după ce sinteza s-a terminat). Nucleotidele care compun o asemenea moleculă intră apoi în rezervele celulare de baze purinice și pirimidinice.

Moleculele de ARN-i sintetizate în procesele de cataliză eterogenă matricială pe moleculele de ADN preiau diferite cuvinte din vocabularul ADN-ului, repetînd în structura lor secvența specifică a nucleotidelor care caracterizează diverse porțiuni din lanțul polinucleotidic de ADN.

În problema sintezei proteinei, ca și în analiza formării moleculelor de ARN-i sub acțiunea moleculelor de ADN, metodele de studiere a chimiei fenomenelor biologice s-au contopit cu cele ale geneticii. Ne aflăm în fața celor mai intime procese care se desfășoară în organismele vii. Aceste procese au loc în celula considerată ca sistem de comandă; ele sînt programate de moleculele ereditare organizate în cromosomi sub formă de molecule de ADN.

---

* Tritiu = H^3 = hidrogen cu nucleul format dintr-un proton și doi neutroni (3 = număr de masă = număr de particule nucleare). Tritiul este izotopul cel mai greu al hidrogenului, nu se găsește în natură, este izotop radioactiv artificial. — *N.R.*

** Existența ARN-ului de informație sau mesager (ARN-i sau ARN-m) rezultă din experiențele descrise în această lucrare, făcute pe microorganisme (procariote). Cercetări recente făcute pe culturi de celule *HeLa* (vezi nota de la pag. 224) par să nu confirme existența unui ARN de informație de scurtă durată, cu concluzia că transmiterea informației cuprinse în ADN-ul nuclear s-ar face și prin mecanisme încă necunoscute. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

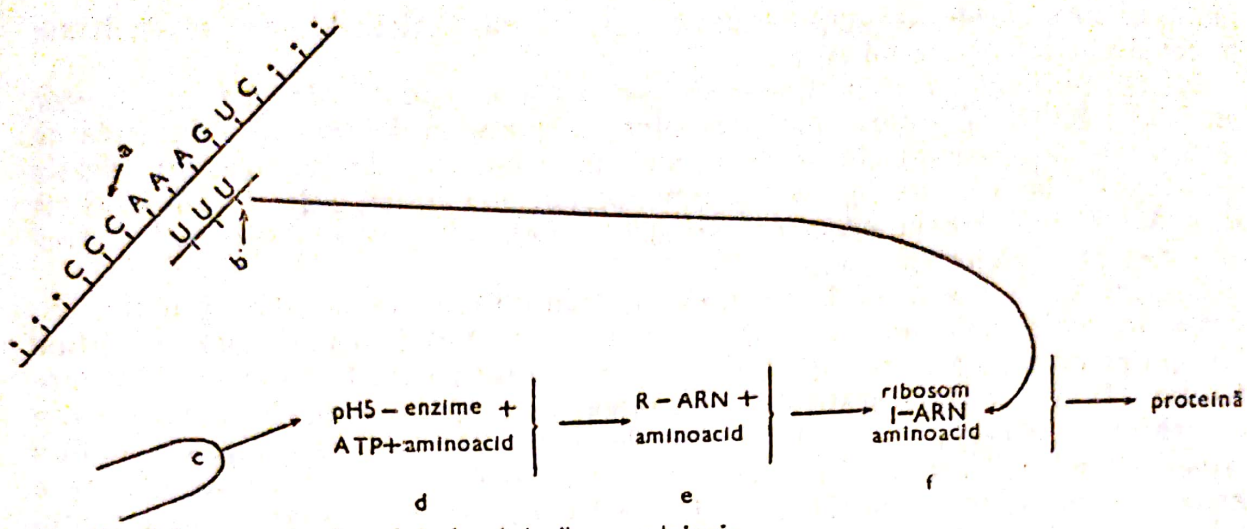


Fig. 55. Schema mecanismului de sinteză a proteinei:
a — filamentul de ADN din cromosom care poartă codul genetic; *b* — molecula de ARN-i care a preluat o parte a informației genetice, înregistrate în moleculele cromosomului; *c* — rezerva de aminoacizi din citoplasmă; *d* — activarea aminoacizilor; *e* — preluarea aminoacidului activat de către molecula de ARN-s și transportul lui în ribosomi; *f* — distribuirea sistematică a aminoacizilor după codul ARN-ului, formarea lanțului polipeptidic și dobîndirea structurii secundare și terțiare a proteinei sintetizate.

Schema generală a proceselor de sinteză dirijată a proteinelor este prezentată în fig. 55.

Din schemă se poate vedea încă o dată că procesele de sinteză a proteinelor sînt complexe și se desfășoară în mai multe trepte. Ele încep cu folosirea rezervei de aminoacizi existente în citoplasmă. Asocierea fiecăruia din cei 20 de aminoacizi la o pH5 — enzimă duce la activarea lui prin utilizarea legăturilor macroergice ale moleculei de ATP. Aceeași enzimă asigură transportul aminoacidului activat pe moleculele de ARN-s. Aceste molecule au o afinitate selectivă pentru aminoacizii pe care îi transportă în ribosomi. În fiecare ribosom se acumulează zeci și sute de aminoacizi. Mesagerii de la moleculele genetice de ADN din cromosomi, sub formă de molecule de ARN-i, asigură repartiția ordonată a aminoacizilor în lanțuri specifice de polipeptide. Enzime speciale catalizează formarea legăturilor polipeptidice. Astfel se realizează sinteza dirijată a moleculei de proteină, fenomen care pînă nu de mult părea cu totul inexplicabil. Informația genetică înscrisă în moleculele de ADN din cromosomi dirijează, prin intermediul ARN-ului de informație, procesul de construire a moleculelor proteinice specifice. Ultima etapă în formarea moleculei de proteină biologic activă constă în aceea că molecula inițial liniară, sub formă de lanț polipeptidic, capătă configurația specifică fiecărei proteine, adică dobîndește o structură spațială. Principiile apariției acestor caracteristici secundare și terțiare în structura proteinei nu au fost pînă acum lămurite.

Locusurile cromosomilor (genele), care prin intermediul moleculei de ARN-i determină proprietățile chimice specifice ale proteinelor sintetizate, au căpătat denumirea de gene structurale. Cercetările recente (din 1960 și 1961) au arătat că în afară de efectul determinat de genele structurale, în procesele de sinteză a proteinelor joacă un rol însemnat controlul genetic al vitezei de sinteză și al proceselor care inițiază această sinteză. S-a descoperit acțiunea de comandă exercitată de unele gene speciale — reglatoare și operatoare — precum și sisteme speciale de complexe de gene structurale, așa-numiții operoni care reprezintă sistemele active în cursul sintezei moleculelor de ARN-i. Caracterul și

Scanned with OKEN Scanner

însemnătatea acestor sisteme genetice în sinteza proteinelor vor fi analizate în capitolul III al acestei cărți.

Sinteza moleculelor de proteină este precedată de sinteza „cărămizilor" acestor molecule, adică de sinteza aminoacizilor. În paragraful următor vom arăta că sinteza fiecărui aminoacid se realizează de asemenea sub un control genetic specific. Pe de altă parte, sinteza acizilor nucleici înșiși, atît a ADN-ului cît și a ARN-ului care programează sinteza proteinelor, nu se poate realiza fără acțiunea proteinelor-enzime.

Continuitatea vieții se întemeiază pe transmiterea informației genetice înscrise în moleculele de ADN ale cromosomilor. Metabolismul care constituie funcția principală a activității biologice se bazează pe existența compușilor proteinici. Toate acestea arată că ereditatea, care înseamnă transmiterea din generație în generație a aceluiași tip de metabolism și care asigură evoluția organismelor pe baza fixării ereditare a tipurilor progresive de modificare a metabolismului, se întemeiază pe interacțiunea, istoric realizată, dintre proteine și acizii nucleici.

Triada principalelor substanțe din celulă, alcătuită din ADN, ARN și proteine reprezintă baza activității biologice a organismelor actuale, temelia eredității. Studierea aspectului chimic al fenomenelor biologice a dovedit interdependența acestor trei categorii de polimeri fundamentali pentru viață. În paragraful următor ne vom ocupa de analiza controlului genetic al biosintezei aminoacizilor și de rolul moleculelor ereditare în sinteza enzimelor, care constituie motorul biochimic al tuturor proceselor biologice esențiale din celulă.

BIBLIOGRAFIE

1 L. Pauling, R. B. Corey a. R. Hayward, *The structure of proteins*, în The physics and chemistry of life, în „Scientific american books".
2 B.W. Low — *The structure and configuration of aminoacid, peptides and proteins*, în The protein. Chemistry, biological activity and methods, v. I, part. A, pp. 235—391.
3 V. S. Tongur, *Vzaimosviaz biosinteza, belca i nucl.inovîh chislot*, în „Uspehi sovremen. biol.", 49 vîp 2, 1960.
4 M. Hoagland, *Enzimatic reactions between aminoacids and ribonucleic acids as intermediate steps in protein synthesis*. IV Intern. Congr. of Biochem. Symposium No. VIII, reprint No. 2. 1958.
5 A. Rich. *An analysis of the relation between DNA and RNA*, în „Annales of the New York Acad. Sci.", vol. 8, 709, 1959.
6 I. Olenov. *O peredace informații ot DNC c belcam*, în „Citologhia", *4*, I, 109, 1962.
7 L. Iudin, *Problemî gheneticescovo coda necotorîe noveișie dostijenia*, în „Citologhia", *4*. 2, 101, 1962,
8. J. Hurwitz a. J. J. Furth, *Messenger RNA*, în „Scientific american", 206, 2, 41, 1962.
9 J. E. Speyer, P. Lengyel, C. Basilio, S. Ochoa, *Sythetic polynucleotides and the aminoacid code*, IV, Proc. Natl. Acad. Sci. *48*, 3, 441, 1962.

7. Controlul genetic al moleculelor de aminoacizi, enzime, antigeni și hormoni în dezvoltarea ontogenetică și filogenetică a organismelor

Dirijarea proceselor biochimice în celulă se datorește în primul rînd sistemului de proteine-enzime care dirijează sinteza moleculelor de importanță vitală. Sinteza enzimelor este determinată de factori genetici, pentru că asemănarea dintre metabolismul părinților și cel al descendenților se realizează în primul

Scanned with OKEN Scanner

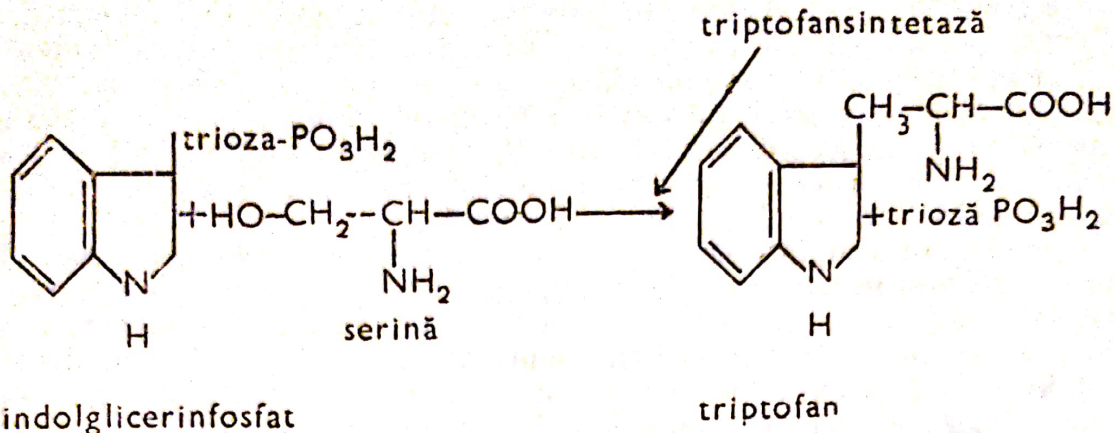


Fig. 56. Ultima fază în reacţiile catalitice de sinteză a triptofanului sub acţiunea triptofansinteazei

rînd prin reproducerea enzimelor. Am arătat mai sus că sinteza proteinelor specifice este controlată de moleculele de ARN-i, care poartă informaţia genetică înscrisă în moleculele de ADN. De aceea, apariţia enzimelor, al căror fundament proteinic este sintetizat în ribosomi, are loc de asemenea la „comanda" primită de la nucleul celulei. Dar şi biosinteza aminoacizilor * se face tot sub controlul strict al unor sectoare specifice ale cromosomilor, denumite locusuri sau gene **.

Influenţa diferitelor gene se răsfrînge asupra diverselor faze ale biosintezei. Analiza caracterului acestei influenţe este posibilă datorită apariţiei mutaţiilor, în care caz structura unei gene normale (o anumită poziţie a nucleotidelor într-o regiune dată a cromosomului) suferă alterări mutaţionale. Diferitele stări ale unei gene, atît cele normale, cît şi cele determinate de mutaţie, au căpătat denumirea de alele. În celulele cu gene mutante, procesele care în celulele normale sînt programate de alele normale, nu mai au loc sau se desfăşoară după un program nou, modificat. În procese complexe, cum ar fi acelea de sinteză a unei enzime, influenţa genelor se poate traduce prin modificarea fie a vitezei de formare a moleculelor de enzimă, fie a structurii moleculare. Această modificare este o consecinţă a perturbării secvenţei aminoacizilor sau a schimbării cantităţii lor în proteină. În unele cazuri procesele primare pot fi atît de profund tulburate, încît formarea moleculei de enzimă să devină imposibilă. În ultimii ani problema caracterului influenţei exercitate de gene asupra procesului de sinteză a enzimelor a fost supusă unei analize amănunţite.

Vom lua ca exemplu sinteza triptofansinteazei, o enzimă necesară desfăşurării ultimelor faze din lanţul de reacţii care duc la sinteza triptofanului. Această enzimă catalizează reacţia dintre indolglicerofosfat şi serină — ultima etapă în sinteza triptofanului (fig. 56). În molecula de indolglicerofosfat, serina înlocuieşte triozofosfatul, care este pus în libertate, şi se formează molecula de triptofan.

La mucegaiurile din genul *Neurospora*, mutaţiile care afectează ultima verigă a sintezei triptofanului au fost identificate cu mare exactitate. Dacă intervin asemenea mutaţii, ciuperca se dezvoltă numai într-un mediu în care s-a

* Biosinteza aminoacizilor este controlată de aparatul nuclear prin sinteza enzimelor — sinteaze, care sintetizează aminoacizii. —*N.R.*

** *Locus* (plural locusuri sau loci) are predominant semnificaţie topică pe cînd prin genă se înţelege mai mult funcţia unuia sau mai multor locusuri care contribuie la transmiterea aceleiaşi însuşiri. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

adăugat triptofan. Dacă sinteza s-ar întrerupe în alte faze, mai timpurii, ciuperca s-ar putea dezvolta atît în urma adăugării triptofanului gata preparat, cît și atunci cînd în mediu s-ar adăuga precursorii corespunzători ai triptofanului. Dar în cazul blocării ultimei faze a sintezei triptofanului, creșterea unor asemenea tulpini de *Neurospora* este posibilă numai cu condiția adăugării triptofanului: dacă se introduce în mediu indolglicerofosfatul sau precursorul său — acidul antranilic — cultura nu se dezvoltă.

Care este natura mutațiilor în gena care programează sinteza enzimei? Răspunsul la această întrebare a fost obținut prin analiza amănunțită a proteinelor sintetizate în celulele diferitelor linii mutante ale genului *Neurospora;* această analiză a fost efectuată prin metode imunologice. Se știe că dacă unui animal i se injectează intravenos proteine străine pentru el (antigeni), în sîngele lui se formează anumite proteine cărora li s-a dat denumirea de anticorpi, datorită capacității lor de a se uni cu antigenii introduși. Astfel, ca răspuns la inocularea vaccinului cu virus poliomielitic atenuat apar în sînge anticorpi specifici. Dacă agentul infecțios pătrunde într-un organism astfel imunizat, acesta se poate apăra. Virusul infectant este blocat de anticorpi după ce a ajuns în organism, devenind astfel incapabil să pătrundă în celulele nervoase. Reacția antigen-anticorp este specifică. Anticorpii reacționează numai cu un anumit antigen. Ca atare, reacția antigen-anticorp constituie o metodă excelentă de analiză a caracterului mutațiilor care afectează sinteza proteinelor-enzime.

Triptofansinteaza ce catalizează ultima reacție din sinteza triptofanului este o proteină care poate fi izolată și purificată. Introducerea acestei proteine în organismul iepurelui duce la formarea de anticorpi specifici. În fig. 57 este arătată influența pe care o exercită asupra acestei enzime serul sanguin al unui iepure normal și acela al unui iepure imunizat prin injectarea enzimei purificate, izolate din *Neurospora.* Se vede că serul unui iepure normal nu influențează enzima. Tratarea ei cu un astfel de ser nu împiedică sinteza normală a triptofanului. Ultima etapă a acestei sinteze, și anume transformarea indolglicerofosfatului în triptofan, se produce sub acțiunea triptofansinteazei nemodificate. Astfel, serul normal de iepure este neutru față de sinteza triptofanului. Situația se schimbă cînd se folosește serul unui iepure imunizat. În acest caz, anticorpii din ser blochează enzimele și sinteza triptofanului încetează cu desăvîrșire. Ac-

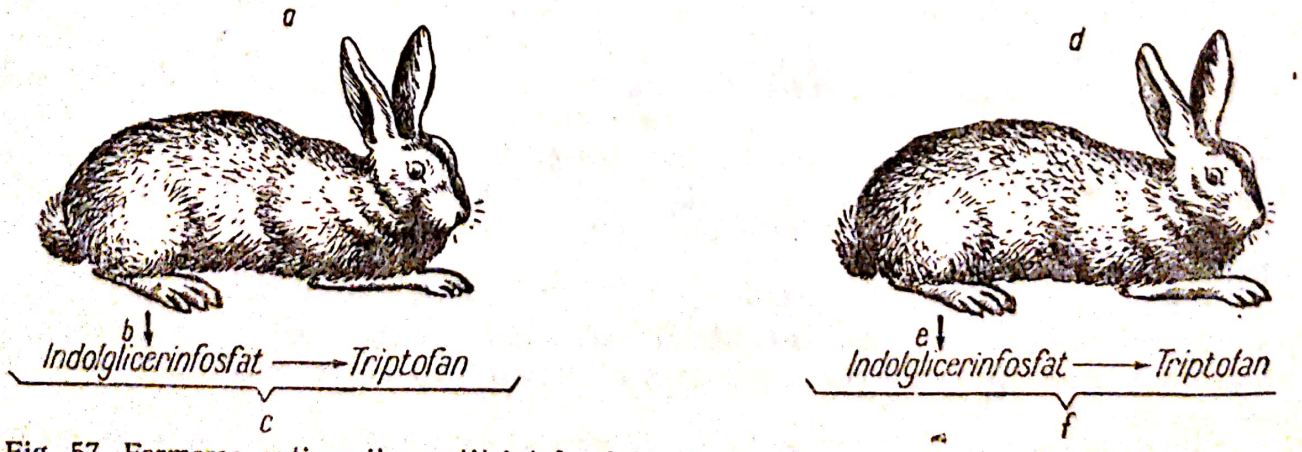


Fig. 57. Formarea anticorpilor antitriptofansintează:
a — iepure normal; serul lui (*b*) nu tulbură sinteza normală (*c*) a triptofanului în celulele de *Neurospora*; *d* — iepure imunizat cu triptofansintează purificată; *e* — ser cu anticorpi împotriva triptofansinteazei (sub acțiunea unui asemenea ser, în celulele de *Neurospora* sinteza este întreruptă și triptofanul (*f*) nu se mai formează).

Scanned with OKEN Scanner

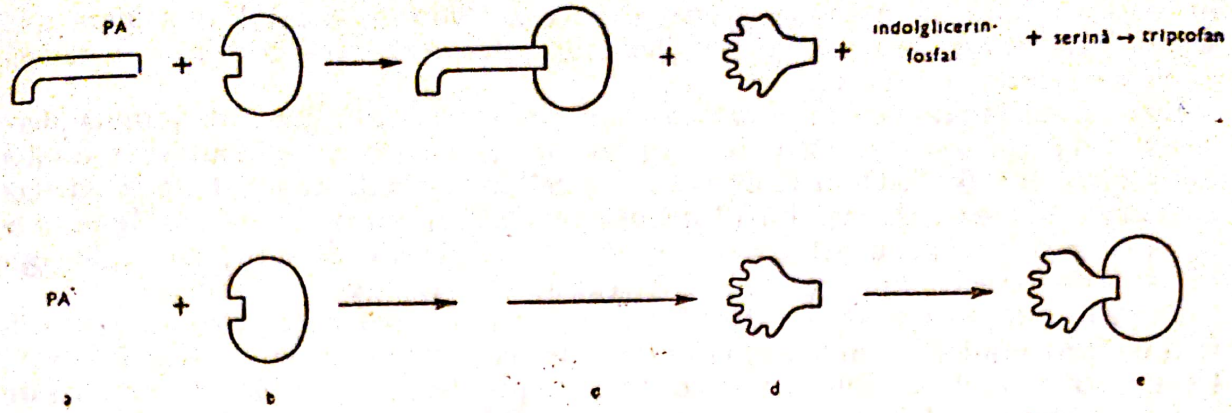


Fig. 58. Schema determinării imunologice a modificărilor exercitate de mutaţiile genei care programează sinteza triptofansinteazei la *Neurospora*:

a — extract din celulele mutante; PA^+ — prezenţa proteinei antigenic active; PA^- — lipsa proteinei active; *b* — anticorpii împotriva triptofansinteazei; *c* — neutralizarea anticorpilor (sus) şi lipsa neutralizării (jos); *d* — enzima; *e* — (sus) sinteza normală a triptofanului; enzima neutralizată de anticorpi (jos); sinteza triptofanului nu se realizează.

ţiunea serului este cu totul specifică, adică anticorpii lui nu exercită nici o influenţă asupra altor enzime, ci reacţionează numai cu proteina triptofansinteazei.

Capacitatea triptofansinteazei * de a reacţiona cu anticorpii este specifică şi diferită de capacitatea acestei enzime de a cataliza transformarea indolglicerofosfatului în triptofan. După cum se ştie, cu toată specificitatea reacţiei antigen-anticorp, anticorpul este capabil să reacţioneze nu numai cu antigenul specific, deci cu proteina cu care a fost imunizat animalul, ci şi cu alte cîteva proteine, înrudite din punct de vedere structural. Acest fenomen deschide mari perspective pentru analiza tipurilor de proteine sintetizate sub influenţa diferitelor mutaţii ale uneia şi aceleiaşi gene, a cărei funcţie programează sinteza triptofansinteazei. Există, de exemplu, următoarea posibilitate: în cazul unor mutaţii care duc la pierderea capacităţii de sintetizare a triptofanului, componenta proteică a enzimei este sintetizată în celulă, dar această proteină nu mai desfăşoară o activitate catalitică. Analiza unui asemenea tip posibil de mutaţie s-a efectuat folosind reacţia antigen-anticorp. Schema unei astfel de experienţe este prezentată în fig. 58. Se presupune că în extractul obţinut din celulele mutante există o proteină inactivă care este totuşi atît de apropiată structural de proteina triptofansinteazei, încît poate intra în reacţie cu anticorpul format în sîngele iepurelui în urma administrării enzimei active**. Dacă această presupunere este justă, anticorpii adăugaţi într-o anumită cantitate în extract ar trebui să fie neutralizaţi în urma combinării lor cu moleculele enzimei inactive ***. Se înţelege că adăugarea ulterioară a unei enzime active nu va mai fi blocată de către anticorpi. Un asemenea extract care a neutralizat anticorpii introduşi

* Triptofansinteaza este antigenică printr-o altă parte a moleculei decît prin centrul enzimatic activ, în schimb, prin reacţie cu anticorpul specific, este blocată şi activitatea enzimatică. În mod similar toxinele microbiene continuă să fie antigenice şi după blocarea părţilor din moleculă de care depinde toxicitatea, adică şi după transformarea lor în anatoxine. Anticorpii formaţi prin inoculare de anatoxină sînt însă şi antitoxici: blochează deopotrivă şi partea antigenică, şi partea toxică a moleculei de toxină. — *N.R.*

** E de presupus că mutaţia modifică numai centrul activ al enzimei şi din această cauză partea antigenică a moleculei are aceeaşi structură şi la enzimele inactive, şi la enzima activă. — *N.R.*

*** Reacţia prin care anticorpii sînt inactivaţi cu un antigen asemănător (în cazul de faţă enzima inactivă) poartă numele de reacţie de inhibare a anticorpilor. — *N.R.*

în el și care conține moleculele unei enzime active este capabil să asigure sinteza triptofanului. În prezența lui, indolglicerofosfatul intră în reacție cu serina și se formează triptofanul.

Dacă mutația genei care programează sinteza triptofansinteazei determină pierderea completă a capacității de a forma proteina-enzimă, tabloul se schimbă total (vezi fig. 58)*. Dacă la extractul de celule mutante de acest tip se adaugă anticorpi, fixarea anticorpului (din lipsă de antigen) nu mai are loc. Moleculele de enzimă activă adăugate la acest extract sînt blocate de anticorpi. Un asemenea extract este deci inactiv; el nu catalizează sinteza triptofanului.

Experiențele au arătat că majoritatea mutațiilor genei care programează sinteza triptofanului determină formarea unei proteine catalitic neutre (tip PA^+)**. Un număr oarecare de mutații are ca urmare pierderea capacității de sintetizare a componentei proteinice a fermentului (tip PA^-).

Astfel, analiza imunologică a arătat că mutațiile pot avea ca rezultat pierderea activității enzimatice fără ca celula să piardă și capacitatea de a forma o proteină asemănătoare din punct de vedere structural cu enzima activă ***.

Analiza naturii modificărilor structurale ale proteinei-enzimă se poate face și mai amănunțit dacă se studiază rezultatul influenței diferitelor mutații asupra acțiunii enzimei active.

S-a constatat că triptofansinteaza catalizează trei reacții în procesul de transformare a indolglicerofosfatului în triptofan. Reacția 1 reglează sinteza triptofanului din indolglicerosfosfat și serină (fig. 59). Reacția 3 este legată de transformarea indolglicerofosfatului în indol, iar reacția 2 reglează sinteza triptofanului din indol și serină. Se pune întrebarea dacă în molecula enzimei se pot produce diferite modificări structurale care să ofere diverse posibilități de combinare pentru cele trei reacții sau dacă aceste trei reacții sînt atît de puternic legate în activitatea catalitică generală a enzimei, încît modificările acesteia pot duce numai la inhibarea sau accelerarea tuturor celor trei reacții.

Mutațiile în urma cărora celulele se pot dezvolta numai dacă în mediu se adaugă triptofanul gata preparat tulbură posibilitatea de desfășurare a reacțiilor 1 și 2. În ce privește reacția 3, ea nu suferă modificări la acești mutanți. Cu enzima izolată din asemenea celule și apoi purificată se obține ușor *in vitro* reacția de transformare a indolglicerofosfatului în indol. Această enzimă reacționează cu anticorpii formați în serul iepurelui în urma imunizării lui cu triptofansintează.

În rîndul mutanților care se pot dezvolta numai dacă în mediu se adaugă triptofanul gata preparat există și unii care cresc dacă în mediu se adaugă indol. În fig. 59 se vede că mutațiile de acest tip blochează reacțiile 1 și 3 fără a tulbura reacția 2. Într-adevăr, cu enzima izolată se poate obține *in vitro* reacția 2, adică sinteza triptofanului din indol și serină.

Astfel, asocierea analizei genetice cu cea imunologică și biochimică a arătat că mutațiile care modifică un anumit locus al cromosomului programează formarea în celulă a unor proteine- enzime modificate în sens diferit.

Din exemplul tripsinei și al altor enzime se vede că activitatea catalitică a moleculei de enzimă nu este legată de întregul lanț polipeptidic și nici de

---

* În cazul în care mutația modifică și partea antigenică și centrul activ al triptofansinteazei sau în cazul în care nu se mai sintetizează nici un fel de proteină. — *N.R.*

** PA^+ = proteină antigenic activă (enzimatic inactivă) și PA^- = lipsa proteinei (enzimatic și antigenic inactivă). — *N.R.*

*** Asemănătoare structural sau cu antigenitatea păstrată. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

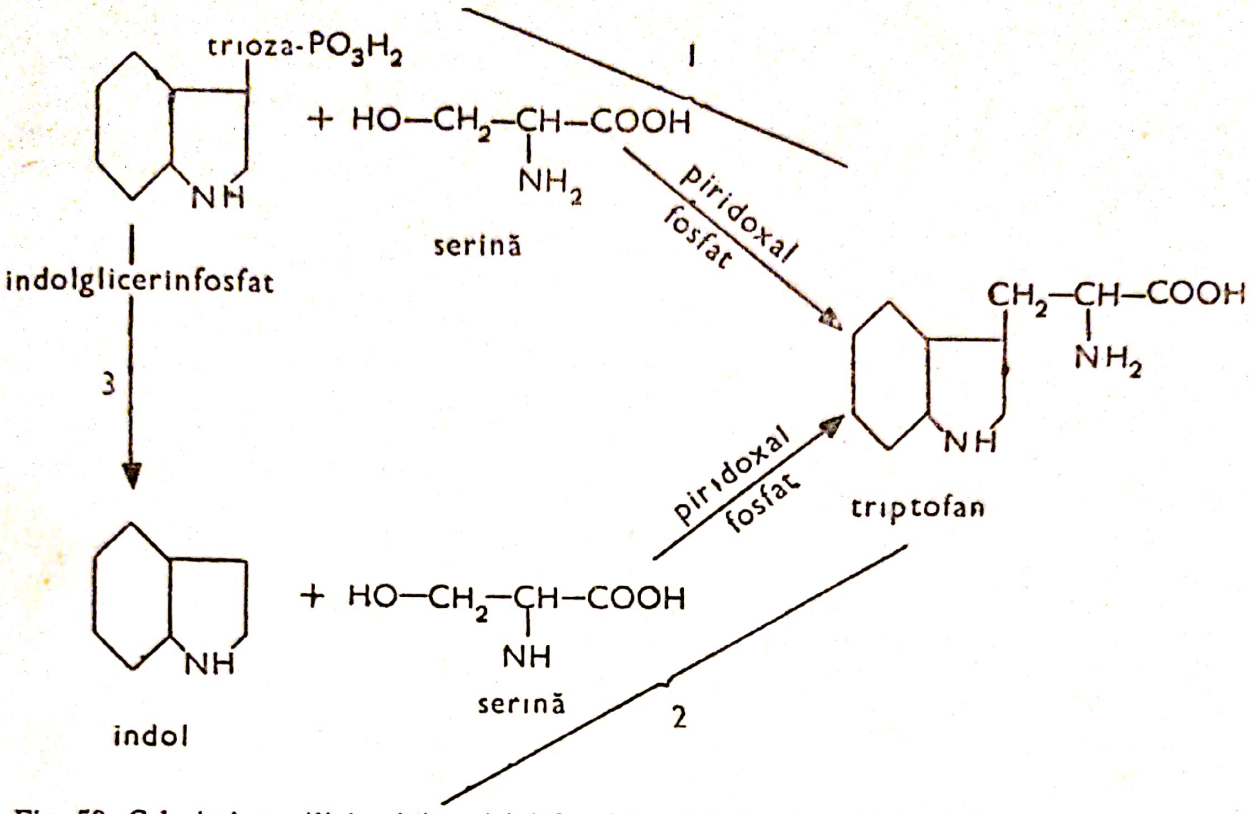


Fig. 59. Cele trei reacţii în sinteza triptofanului catalizate de triptofansintează:
1 — reacţia de transformare a indolglicerofosfatului şi a serinei în triptofan; *2* — reacţia de transformare a indolului şi a serinei în triptofan; *3* — reacţia de transformare a indolglicerofosfatului în indol.

configuraţia de ansamblu a moleculei de proteină-enzimă. Proprietăţile enzimatice ale unei asemenea molecule sînt concentrate într-o zonă limitată, denumită „miez" sau „centru activ". Modificările structurii centrului activ al moleculei constituie o consecinţă a noii programări specifice genelor mutante.

Care este principala cauză a acestor modificări în configuraţia moleculei de enzimă care la rîndul lor duc la modificarea activităţii sale biologice? Dînd ca exemplu structura moleculelor de insulină şi de ribonuclează, am arătat că particularităţile acestei structuri sînt legate de o anumită secvenţă a aminoacizilor în lanţurile polipeptidice.

Într-o serie de cazuri s-a dovedit că mutaţia unor gene poate modifica secvenţa diferiţilor aminoacizi în lanţurile peptidice. Cel mai bun exemplu de acest fel este analiza moleculară a uneia din bolile de sînge ale omului, aşa-numita anemie falciformă. Această boală a fost denumită astfel pentru că globulele roşii ale bolnavilor capătă forma de seceră sau de semilună. Boala este o consecinţă a mutaţiilor genei a cărei alelă normală programează în celulă sinteza hemoglobinei normale.

În locul formelor rotunde normale de eritrocite apar forme denaturate, cu aspect de seceră, datorite cristalizării hemoglobinei. Cristalizarea care intervine datorită solubilităţii reduse a hemoglobinei determină contractarea semilunară a eritrocitelor. Hemoglobina celulelor falciforme, hemoglobina-S, are punct izoelectric diferit de cel normal al hemoglobinei-A şi altă valoare a mobilităţii în cîmpul electric*.

* Hemoglobina-S, de la *sickle* = seceră (în limba engleză). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Secvența aminoacizilor în lanțul polipeptidic poate fi stabilită prin hidroliză și cromatografie pe hîrtie. Hidroliza duce la scindarea polipeptidului în fragmente caracteristice pentru fiecare caz în parte. Fermentul tripsină catalizează hidroliza legăturilor peptidice, în special a unor anumiți aminoacizi ca lizina și arginina. Vom lua ca exemplu un polipeptid în care cei 12 aminoacizi au următoarea secvență:

valină	alanină	glicocol	lizină	triptofan	valină	serină	arginină	glutamină	alanină	serină	acid glutamic.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Sub acțiunea tripsinei un asemenea polipeptid se scindează în trei fragmente: 1—2—3—4; 5—6—7—8; 9—10—11—12. Principiul metodei cromatografiei pe hîrtie constă în aceea că fragmentele polipeptidice care apar prin hidroliză migrează cu o viteză diferită din soluție pe hîrtie. În cazul dat se observă pe hîrtie trei pete discontinue.

Cînd hemoglobina normală și cea din anemia falciformă sînt supuse acțiunii tripsinei, fiecare din ele se descompune în 30 de fracțiuni (peptide). Cea mai bună imagine se obține prin combinarea cataforezei cu cromatografia pe hîrtie, adică prin așa-numita metodă a „dactilogramelor", din cauza asemănării cu amprentele digitale. Asemenea dactilograme ce caracterizează repartiția și calitatea fiecăreia din cele 30 de peptide*, atît pentru hemoglobina normală, cît și pentru cea falciformă, sînt prezentate în fig. 60. Vedem că pentru 29 de peptide, forma și repartiția petelor corespund pe deplin în cazul hemoglobinei normale și al celei falciforme. Totuși pata care caracterizează unul din cele 30 de peptide diferă prin formă și poziție. În figură, această pată este haşurată. Cu ajutorul unor metode speciale a fost studiată structura peptidului, caracteristică hemoglobinei-S. S-a constatat că acest peptid conține nouă aminoacizi. Compararea acestui peptid cu peptidul analog din hemoglobina normală dă următorul tablou:

Hemoglobina normală	histidină	valină	leucină	leucină	treonină	prolină
	1	2	3	4	5	6
	acid glutamic		acid glutamic		lizină	
	7		8		9	
Hemoglobina-S	histidină	valină	leucină	leucină	treonină	prolină
	1	2	3	4	5	6
	valină		acid glutamic		lizină	
	7		8		9	

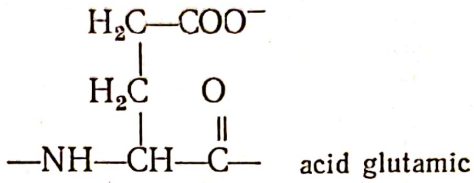
Vedem că deosebirea dintre aceste două peptide privește un singur aminoacid — acela din poziția 7. În acest sector, în hemoglobina normală este situat un radical de acid glutamic. În hemoglobina bolnavilor de anemie falciformă, acidul glutamic este înlocuit în această porțiune cu valina. Valina este electric neutră, din care cauză molecula hemoglobinei-S are o sarcină negativă în minus, astfel că proprietățile electrice ale întregii molecule se modifică.

Molecula de hemoglobină conține peste 500 de aminoacizi. Deosebirea dintre hemoglobina normală și forma mutantă (hemoglobina-S) se referă la un singur

* Aci peptid cu înțeles de oligopeptid. — *N.R.*

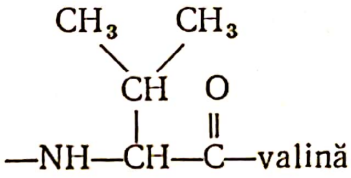
Scanned with OKEN Scanner

aminoacid din catena polipeptidică*. Iată rezultatul analizei deosebirilor dintre sîngele oamenilor sănătoși și al celor bolnavi de anemie falciformă, boală adeseori letală. În acest caz avem de-a face cu categoria așa-numitelor „boli moleculare" la om. Anemia falciformă ereditară este o consecință a modificării moleculei de hemoglobină. Cauza acestei modificări o constituie tulburarea prin mutație a structurii genei care sub formă de alelă normală programează biosinteza hemoglobinei normale. Acum, starea mutantă a genei tulbură biosinteza normală prin înlocuirea unuia dintre aminoacizii proteinei respective. În acest caz, în uriașul lanț polipeptidic al hemoglobinei înlocuirea unei singure molecule de acid glutamic



acid glutamic

specific hemoglobinei normale cu o moleculă de valină



duce la modificări profunde ale proprietăților fiziologice ale hemoglobinei și la îmbolnăvirea gravă a omului, provocată de tulburarea capacității hemoglobinei modificate de a transporta oxigenul. Distrugerea rapidă a eritrocitelor falciforme și intensificarea compensatoare a hematopoezei, ca reacție la această distrugere, hipertrofierea splinei, trombozele și fenomenele consecutive provoacă o formă gravă de anemie. Pe de altă parte, plasmodiul — agentul patogen al malariei — este adaptat la scindarea enzimatică și la utilizarea moleculelor normale de hemoglobină. El nu este capabil să acționeze asupra moleculelor de hemoglobină-S. Acestea sînt numeroasele consecințe care apar în organismul omului ca urmare a unor modificări — în aparență neînsemnate — la nivel molecular, în urma cărora în molecula hemoglobinei unul din sutele de aminoacizi care o alcătuiesc, și anume acidul glutamic, este înlocuit cu valina.

Revenind la problema esenței modificărilor din moleculele de enzime, constatăm că acțiunea mutațiilor este legată de o modificare ce determină tulburări ale secvenței normale a aminoacizilor. Acest fapt a fost stabilit prin cromatografia proteinelor enzime, hidrolizate cu tripsină. Proteine-enzime de tipul triptofansintezei au fost izolate atît din liniile normale de neurospora, cît și din celulele mutante. Și capacitatea de programare a genei normale date și cea a formelor ei modificate prin mutație (alelele mutante) sînt legate de controlul asupra particularităților structurale ale proteinelor-enzime exprimat prin crearea unei secvențe determinate a aminoacizilor. Sistemul de codificare al alelei normale și al diferitelor stări mutante ale acesteia este fixat în proprietățile moleculare

* Globina este formată din 544 de aminoacizi dispuși în patru lanțuri polipeptidice (tetramer). — *N.R.*

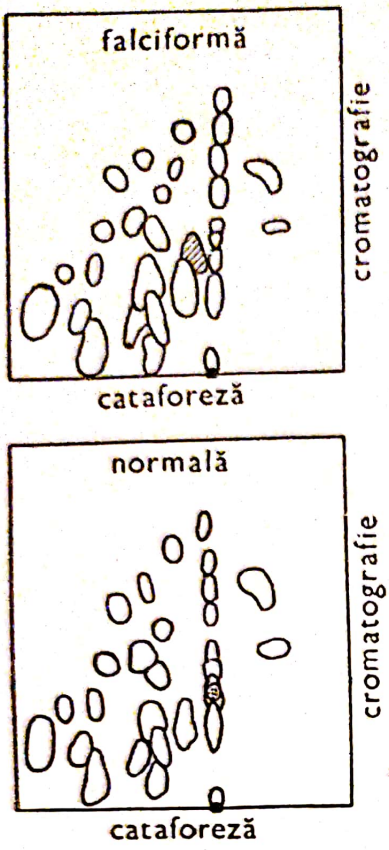


Fig. 60. Cataforeza și cromatografia pe hîrtie a peptidelor hemoglobinei normale și hemoglobinei falciforme

ale ADN-ului, care constituie baza materialului genetic. După cum am văzut, prin heterocataliza matricială a moleculelor de ARN-i, informația genetică se transmite de la genă către centrele citoplasmatice celulare care sintetizează proteinele-enzime. Proteinele care se sintetizează în celulă sub influența programului transmis de moleculele de ADN recepționează acest program și devin ele însele purtătoare ale informației biologice. Această informație înscrisă în moleculele proteinelor constituie baza vieții, a metabolismului și a autoreînnoirii neîntrerupte a substanțelor în celula vie.

Un fapt esențial este acela că principalele componente ale materiei vii sînt identice pentru toate organismele de pe pămînt. Deși există mari deosebiri între diferite clase, genuri și specii, totuși celulele lor se aseamănă ca plan general de structură prin natura chimică a substanțelor care intră în compoziția lor și prin aspectele principale ale metabolismului. Activitatea biologică a celulelor implică surse de carbon, de azot și de alte elemente, precum și surse de energie. Din aceste substanțe simple celulele sintetizează „cărămizile" necesare principalelor macromolecule organice, iar din aceste „cărămizi" ele sintetizează macromoleculele ca atare — componentele chimice principale ale organismelor vii, cum sînt proteinele, ADN, ARN, glucidele, lipidele și altele. Aceste sinteze se realizează în serii de reacții succesive, care pentru desfășurarea lor necesită cheltuială de energie. Aceasta duce la formarea unui sistem energetic și la crearea mijloacelor de transmitere intermoleculară a energiei în cursul desfășurării reacțiilor de sinteză. Am văzut care sînt principiile acestei transmiteri atunci cînd am vorbit despre utilizarea energiei legăturilor macroergice ale ATP-ului, în cazul activării aminoacizilor și al sintezei moleculelor de ADN. Este impresionantă particularitatea acestor reacții de sinteză de a se desfășura la temperatură redusă și la presiune mică. Aceasta se explică prin acțiunea unui sistem de enzime capabil să mărească sau să reducă viteza oricărei reacții. În cursul activității lor, enzimele intră în combinație temporară cu diferitele substanțe, apoi se eliberează fără a suferi modificări. De aceea, sistemul enzimatic poate funcționa chiar atunci cînd în celulă enzimele se găsesc în cantitate mică*.

Toate enzimele sînt proteine, dar multe din ele dobîndesc o activitate catalitică numai prin asocierea cu așa-numitul cofactor care este de obicei micromolecular — vitamină sau ion metalic**.

---

* Enzimele se uzează și ele ca oricare din componentele protoplasmei celulare și din această cauză este nevoie de continua lor sinteză. Scăderea cantității de enzime determină funcționarea anormală, îmbolnăvirea celulei sau oprirea metabolismului. — *N.R.*

** Cofactorii (sau coenzimele) sînt formați de obicei din mai multe molecule, între care o vitamină hidrosolubilă. Așa, de exemplu, codehidrazele (coenzimele dehidrogenazelor) sînt formate dintr-o moleculă de vitamină PP, două molecule de riboză, două sau trei molecule de acid fosforic și o moleculă de adenină. Ionii metalici nu au rol de coenzime, ci de activatori ai enzimelor. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

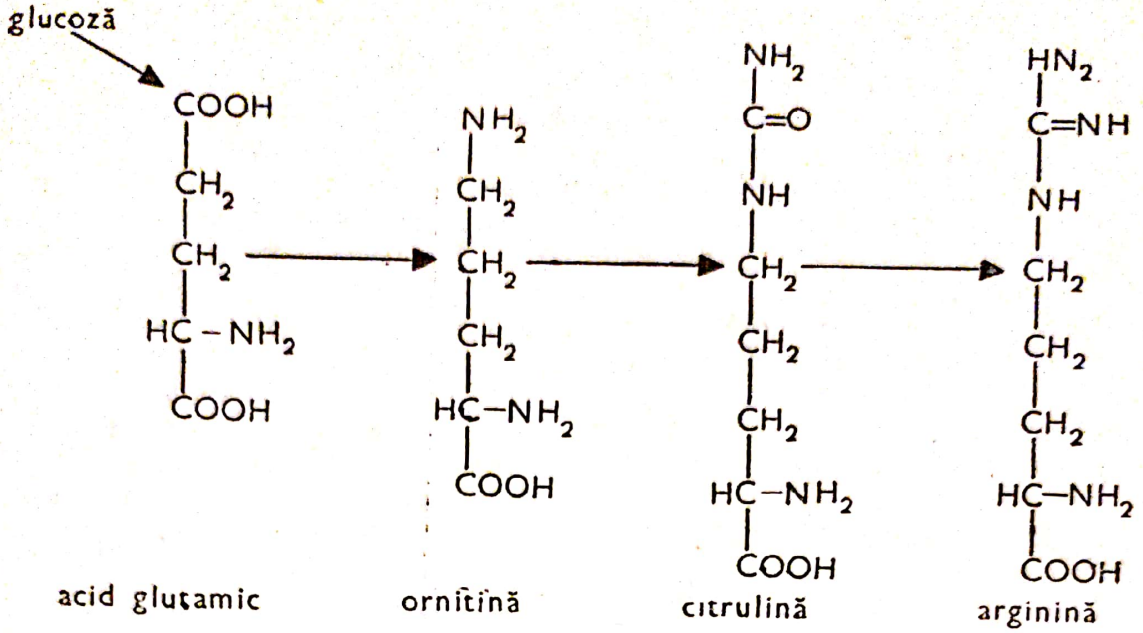


Fig. 61. Trepte în sinteza argininei.

Trăsătura caracteristică a enzimelor este specificitatea lor. O enzimă catalizează o singură reacţie sau o anumită grupă de reacţii. Vom analiza această situaţie luînd ca exemplu sinteza argininei care rezultă în urma transformării acidului glutamic în ornitină, a ornitinei în citrulină şi, în sfîrşit, a citrulinei în arginină (fig.61). Fiecare treaptă din această sinteză necesită prezenţa unei enzime specifice a cărei apariţie este programată în celulele de neurospora prin acţiunea unei anumite gene cromosomiale (fig.62). Vedem că în prezenţa a trei enzime (1,2,3), sintetizate în celule sub controlul a trei gene diferite ale cromosomilor (1, 2, 3), toate aceste trei reacţii de transformare (acid glutamic → ornitină → citrulină → arginină) se desfăşoară în mod obişnuit. În cazul mutaţiilor, unele gene pierd capacitatea de a dirija sinteza citoplasmatică a enzimelor, iar reacţiile se întrerup. Blocarea uneia din treptele sintezei corespunde acelei reacţii pentru desfăşurarea căreia lipseşte enzima necesară, datorită mutaţiei genei corespunzătoare (vezi fig. 62). Începutul tuturor acestor transformări, adică formarea acidului glutamic din glucoză*, este legat de un lung lanţ de reacţii, în care transformarea fiecărei verigi necesită o enzimă specifică, a cărei sinteză este controlată de programul emis de o anumită genă.

Acelaşi mecanism de acţiune a diferitelor enzime, programate de fiecare genă în parte, stă la baza lanţului de reacţii care duc la sinteza triptofanului, tirozinei şi a celorlalţi aminoacizi, a vitaminelor şi a altor substanţe din celulă. Analiza diferitelor mutaţii biochimice care întrerup reacţiile de sinteză într-o fază sau alta permite studierea amănunţită atît a lanţurilor de transformări chimice din celulă, cît şi a controlului genetic asupra biochimismului celular.

Toate acestea arată că studiul biochimiei şi fiziologiei celulare se întemeiază pe cunoaşterea fenomenelor genetice. Chimia genetică, biochimia genetică, fizio-

* De la glucoză la acid glutamic, pe calea cea mai scurtă e nevoie de 11 enzime, de funcţionarea oxidaţiei biologice (lanţul respirator) şi a fosforilării cuplate. — *N.R.*

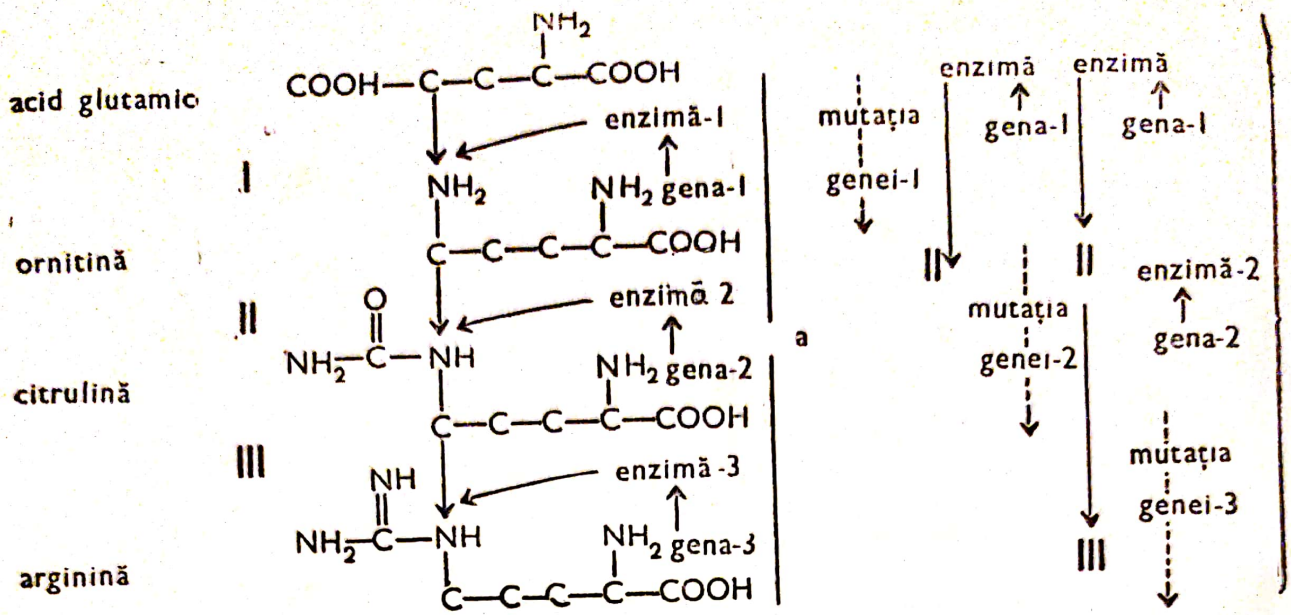


Fig. 62. Controlul genetic al unor enzime specifice care determină diversele etape ale biosintezei argininei la *Neurospora*:
a — ultimele trei etape în sinteza argininei (I, II și III); *b* — încetarea sintezei din cauza pierderii enzimei (săgeata întreruptă) sub acțiunea diferitelor mutații.

logia genetică — iată doar cîteva din problemele care stau astăzi în centrul cercetării fenomenelor vieții și care vor fi descoperite în curînd cu ajutorul unor metode noi, foarte importante, de dirijare a fenomenelor eredității și a vieții în ansamblu.

Deși toate celulele se aseamănă din punct de vedere al principalelor componente, în evoluția viețuitoarelor s-au produs mari deosebiri în ce privește capacitatea de sinteză a celulelor la diferitele specii de organisme.

Cercetările actuale au arătat că deosebirile dintre specii se bazează pe existența unor diferențe ereditare în ce privește tipurile de metabolism și pe deosebirile de programare înscrise în organizarea moleculară a ADN-ului. Aceasta îngăduie diferitelor specii să prelucreze în mod diferit informația venită din mediul extern. Deosebirile dintre tipurile de metabolism sînt legate în primul rînd de deosebiri în sistemul enzimatic. În numeroase cazuri, evoluția progresivă manifestată prin dobîndire de însușiri noi duce la pierderea capacității de sinteză a unor molecule necesare pentru viața organismului. În aceste cazuri, compușii care nu mai pot fi sintetizați sînt obținuți în formă finită din hrană. Formele simple de viețuitoare sînt în general autotrofe, putînd să-și sintetizeze din compuși elementari toți aminoacizii necesari, bazele pirimidinice și purinice, precum și vitaminele*.

Plantele sînt capabile să sintetizeze aminoacizii necesari și alte molecule, dar numai cu ajutorul energiei solare.

---

* Autotrofismul se caracterizează prin capacitatea de sinteză a moleculelor organice din molecule anorganice (CO_2, H_2O, azotați etc.) folosind energia radiantă solară (sau energia unor reacții chimice — chimioautotrofe). Heterotrofele au nevoie de molecule organice și ca sursă de energie și ca sursă de carbon și, cu cît heterotrofismul este mai înaintat, cu atît nevoia de molecule organice, ca sursă de azot, este mai mare. Omul are nevoie de aminoacizi nesintetizabili sau esențiali și de vitamine (inclusiv trei acizi grași nesaturați), pe lîngă moleculele organice sintetizabile care servesc ca sursă de energie, carbon și azot. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Totuşi, numeroase organisme, şi în primul rînd animalele, sînt heterotrofe. Ele trebuie să primească prin hrană o serie de substanţe foarte importante. Astfel, organismul omenesc nu este capabil să sintetizeze vitaminele şi mai mult de 1/3 din aminoacizii care-i sînt necesari*. Aceasta arată importanţa considerabilă a unei alimentaţii raţionale. Iată cheia tratării a numeroase boli ereditare ale omului legate de insuficienţe biochimice determinate de mutaţii. Administrarea compuşilor corespunzători, a căror sinteză este blocată la bolnavi, asigură însănătoşirea lor. Ca exemplu se poate da tratarea diabetului prin introducerea de insulină în organismul bolnavilor**.

Deosebirile specifice în ce priveşte structura moleculelor de proteină arată că evoluţia organismelor are la bază modificarea formelor de metabolism prin transformarea structurii proteinelor. Există date cu privire la conţinutul în aminoacizi al insulinei la cinci specii de mamifere. Cele două lanţuri ale insulinei conţin 51 de aminoacizi. S-ar părea că aici sînt posibile cele mai variate transformări filogenetice. De fapt, structura moleculelor acestei proteine este foarte stabilă. În unele cazuri ea este identică la specii îndepărtate ca poziţie sistematică. Astfel, compoziţia în aminoacizi şi secvenţa acestora sînt identice în insulina porcului şi a balenei (fig. 63). În alte cazuri s-au observat deosebiri în structura insulinei. Totuşi este curios că aceste deosebiri privesc, de regulă, o mică porţiune a moleculei, a lanţului A, şi anume poziţiile 8, 9 şi 10 dintre moleculele de cisteină din poziţiile 6 şi 7 şi molecula de cisteină din poziţia 11. Moleculele de cisteină din poziţiile 6 şi 11 sînt legate în interiorul catenei A printr-o punte disulfurică.

Vedem că molecula insulinei la porc şi balenă diferă de molecula insulinei la berbec prin înlocuirea alaninei din poziţia 8 cu o moleculă de treonină, şi a valinei din poziţia 10 cu o moleculă de izoleucină. Molecula de insulină de la om este analogă în lanţul A cu insulina de la balenă şi de la porc dar alanina terminală din lanţul B este înlocuită în acest caz cu treonina. Molecula insulinei berbecului este diferită de molecula insulinei boului prin înlocuirea serinei din poziţia 9 cu glicocolul. În insulina calului cei trei aminoacizi care în insulina boului se găsesc în poziţiile 8, 9 şi 10 sînt înlocuiţi cu treonina, glicocolul şi izoleucina. Este interesant faptul că aceste înlocuiri ale aminoacizilor în funcţie de specie nu au nici o influenţă asupra activităţii hormonale a moleculei de insulină, care este aceeaşi la toate speciile de mamifere. Modificările moleculare ale insulinei, aşa cum au fost descrise mai sus, privesc o funcţie încă necunoscută.

Sistemul celular al citocromilor are o însemnătate excepţională. El se găseşte în toate celulele avînd rol în cataliza respiraţiei celulare. Se ştie că proteina citocromului devine catalitică prin asociere cu hemul. Acest hem este analog din punct de vedere structural cu hemul din hemoglobină. Asocierea hemului cu proteina formează hemopeptidul citocromului. Hidroliza efectuată cu precauţie

---

* Aminoacizii care intră în structura proteinelor umane sînt: nesintetizabili—valina, treonina, leucina, izoleucina, lizina, triptofanul, fenilalanina şi metionina;— insuficient sintetizabili: arginina (şi probabil şi histidina); sintetizabili din cei esenţiali: cisteina (din metionină) şi tirozina (din fenilalanină); sintetizabili direct: glicocolul, alanina, serina, norleucina, acidul glutamic → glutamina, acidul hidroxiglutamic, acidul aspartic → asparagina, prolina şi hidroxiprolina. În total 8 aminoacizi esenţiali din 22.

Vitaminele necesare omului sînt: hidrosolubile: B_1, B_2, B_5, B_6, B_{11}, B_{12}, PP, H, H', C şi P, şi liposolubile: A, D, E, K şi F. În total 15 vitamine şi trei acizi graşi nesaturaţi (vitamina F). — *N.R.*

** Numai insuficienţele hormonale pot fi tratate cu succes prin terapia de substituţie (şi nici acestea toate). — *N.R.*

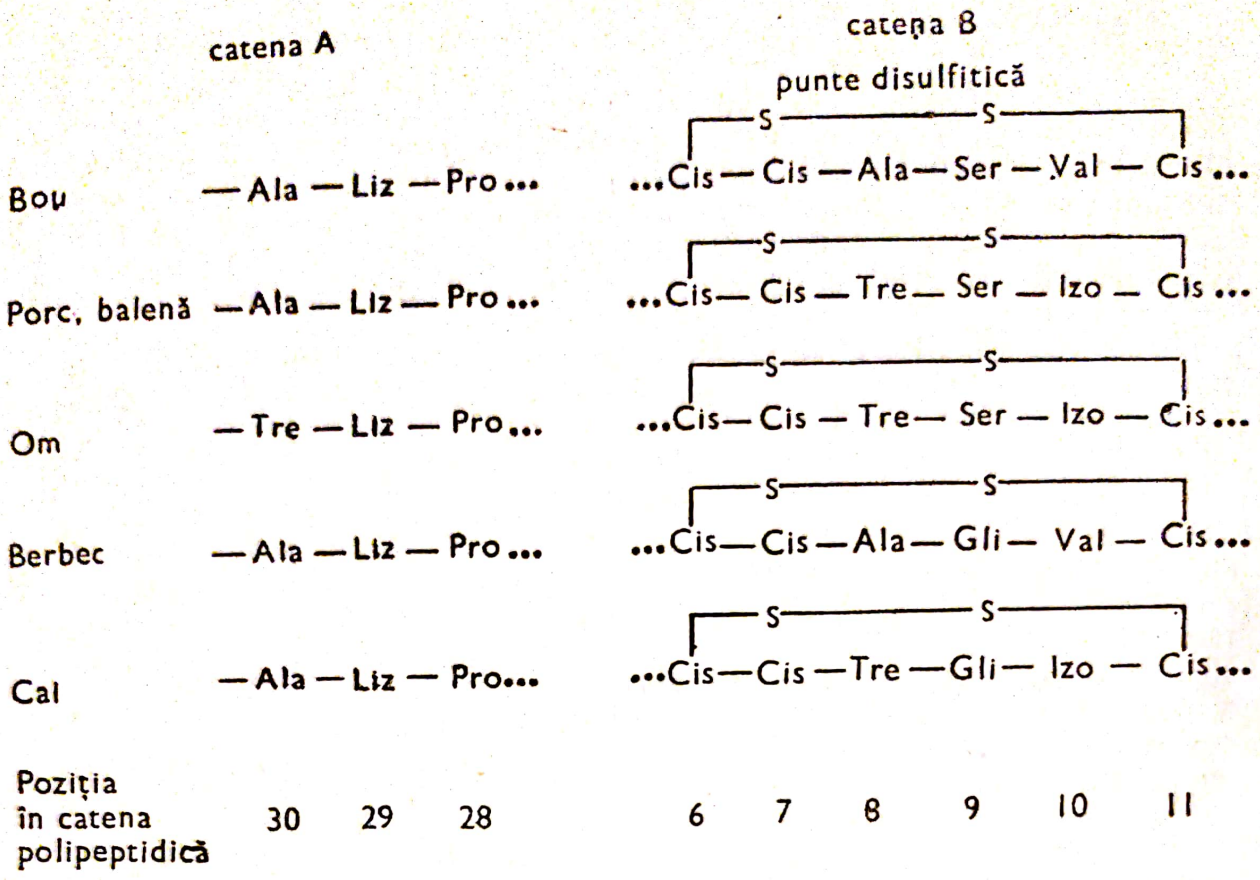


Fig. 63. Diferite părți din lanțurile polipeptidice A și B din structura moleculei de insulină la diferite specii de mamifere

permite să se scindeze din întregul lanț polipeptidic al proteinei citocromului o mică porțiune a catenei de care este legat hemul. Asemenea hemopeptide citocromice au 9—12 aminoacizi, într-o secvență strict determinată pentru fiecare specie. La bou, cal și porc, secvența aminoacizilor în hemopeptid este identică (fig.63). Hemopeptidul găinii diferă printr-un aminoacid. În acest caz alanina prezentă în catena hemopeptidului la bou, cal și porc în poziția 5 este înlocuită cu serină. La o specie animală și mai îndepărtată, și anume la fluturele-de-mătase, deosebirea în ce privește compoziția în aminoacizi a hemopeptidului constă tot în înlocuirea unei molecule de aminoacid. În acest caz lizina din poziția 3 este înlocuită cu arginina. În sfîrșit, la unul dintre reprezentanții microorganismelor, și anume la drojdie, secvența aminoacizilor, comparativ cu ordinea lor la cal, bou și porc, diferă prin trei aminoacizi. La drojdie, lizina din poziția 3 este înlocuită cu arginină (ca și la fluturele-de-mătase), alanina din poziția 5 — cu acidul glutamic, glutamina din poziția 6 — cu leucina.

Exemplul hemopeptidului citocromic arată că proteinele structurilor celulare importante, în special proteinele citocromilor care catalizează respirația celulară la toate organismele animale, își păstrează constanța excepțională a planului general de structură. Este foarte constantă îndeosebi distanța dintre două molecule de cisteină (poziția 4 și 7) de care hemul este legat (vezi fig.64); este de asemenea prezentă în mod constant o moleculă de histidină (în poziția 8), învecinată direct cu cisteina și care joacă probabil un rol important în crearea unei legături coordinative între peptid și fierul din nucleul hemic.

Scanned with OKEN Scanner

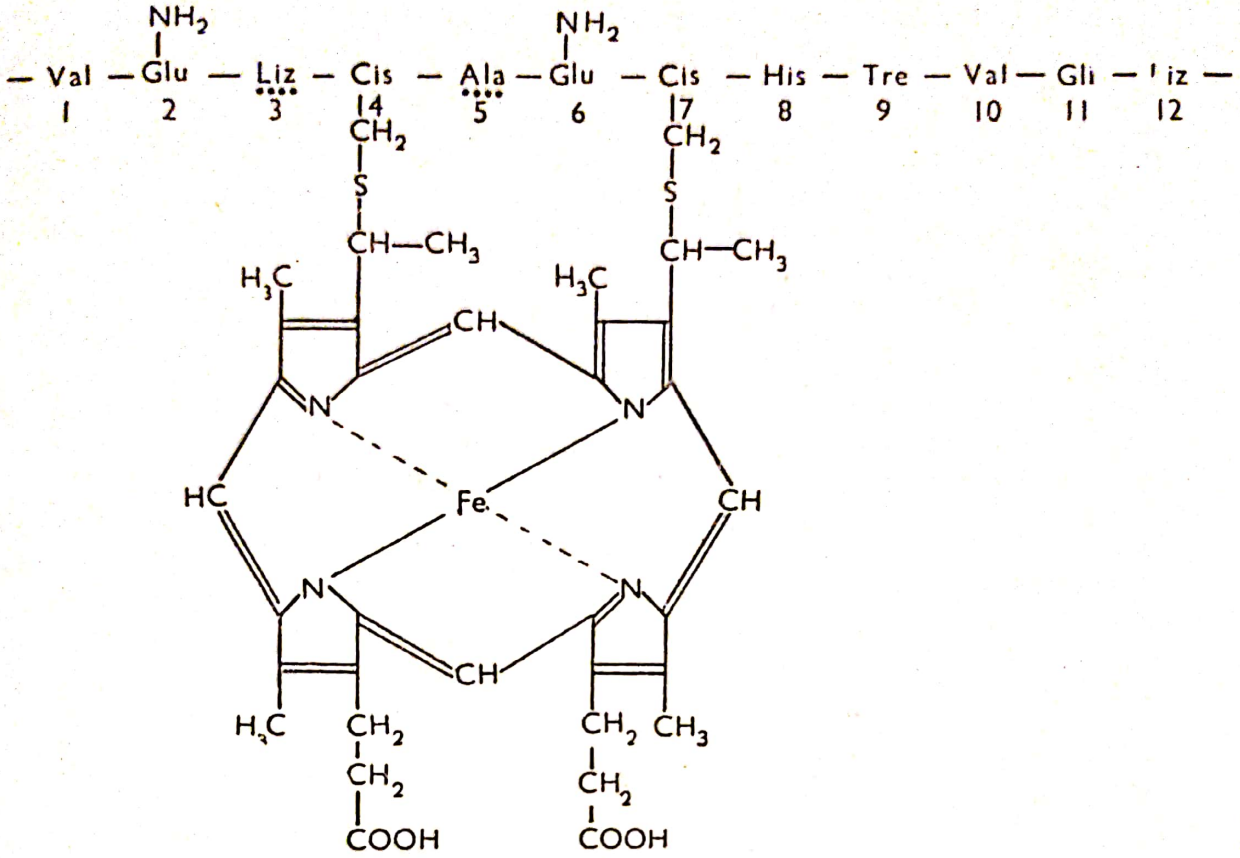


Fig. 64. Structura hemopeptidului din citocrom; sus — polipeptidul proteinei citocromului, legată de hemină prin două molecule de cisteină

Am văzut că importanța diferențelor în ce privește structura hemopeptidului crește pe măsură ce se măresc deosebirile filogenetice dintre specii. Comparîndu-se hemopeptidul drojdiei cu hemopeptidul boului, calului și porcului, s a constatat că la aceștia din urmă trei din cei 12 aminoacizi au fost înlocuiți cu alții. În ce privește deosebirile interspecifice în cadrul unor grupe mari, dar filogenetic unitare (mamifere, păsări, insecte și altele), diferențele de structură ale unor proteine cu funcții identice constau în restructurări neînsemnate ale moleculelor lor, în care unul sau doi aminoacizi sînt înlocuiți cu alții, similari din punctul de vedere al proprietăților, sau își modifică poziția în peptid.

Însemnătatea concretă a cazurilor descrise mai sus cu privire la modificările moleculelor de proteină în procesul evoluției organismelor rămîne în cea mai mare parte încă nelămurită. Aceste modificări nu alterează baza proprietăților catalitice ale proteinelor descrise, ci corespund altor particularități necunoscute. Cazurile studiate în care moleculele de proteină se modifică în cursul evoluției constituie exemple ce ilustrează căile de evoluție moleculară pe care se bazează întregul proces istoric de transformare a vieții pe pămînt.

În lumina faptelor expuse mai sus, datorită cărora s-a stabilit că deosebirile interspecifice ale proteinelor constau în înlocuirea sau în schimbarea poziției unuia sau a doi aminoacizi, devin explicabile principiile acțiunii mutațiilor descrise anterior. Din exemplul hemoglobinei falciforme și al mutațiilor care duc la modificarea triptofansinteazei, rezultă că aceste mutații programează sinteza unor pro-

Scanned with OKEN Scanner

teine modificate. Aceste modificări sînt legate de înlocuirea unor aminoacizi, ceea ce are consecinţe foarte însemnate pentru organismele respective.

Acest fapt dovedeşte importanţa excepţională a proteinelor pentru evoluţia vieţii. Structura lor, compoziţia şi activitatea lor biologică corespund unui sistem strict determinat, creat filogenetic. Proteinele sînt purtătorii informaţiei biologice înscrise atît de precis în structura lor, încît alterarea unei singure „litere" poate duce la tulburarea activităţii vitale a celulei şi a organismului în întregime.

Mutaţia constituie substratul variabilităţii ereditare a organismelor în interiorul speciei, variabilitate care prin intermediul selecţiei contribuie la evoluţia speciilor. Modificarea particularităţilor unor locusuri din cromosom (adică a unor „cuvinte" din vocabularul informaţiei genetice înregistrate în structurile moleculelor de ADN) duce în primul rînd la modificarea programelor de sinteză a proteinelor. Programele acestei sinteze se transmit centrelor de sinteză citoplasmatice prin moleculele de ARN-i.

Descoperirea rolului ADN-ului, ARN-ului de informaţie şi al proteinelor în chimismul şi în activitatea celulei vii a proiectat o lumină nouă asupra mecanismelor biochimice ale fenomenelor de ereditate.

Fenomenul eredităţii este legat de transmiterea informaţiei genetice de la părinţi la copii. Această transmitere se realizează în ansamblul sistemului celular dar rolul principal în acest fenomen le revine moleculelor de ADN. În aceste structuri moleculare este înregistrat codul informaţiei genetice; ele au capacitatea de autoreproducere prin autocataliză.

Însemnătatea principiilor moleculare ale înregistrării informaţiei ereditare devine absolut clară atunci cînd analizăm caracterul complex al organizării structurilor şi proceselor vitale. Celula, care constituie unitatea elementară a vieţii, are un caracter extrem de complex în ce priveşte organizarea şi sistematizarea funcţiilor sale. Această activitate biologică a celulei, adecvată şi organizată, se bazează pe un sistem de substanţe unic, care constituie substratul fizic şi chimic al informaţiei genetice. Simpla împărţire a acestui sistem între două celule-fiice este imposibilă. Numai autoreproducerea şi repartizarea lor determinată, cu păstrarea sistemului ereditar în totalitatea lui, permit celor două celule-fiice să reproducă în întregime celula parentală. Pentru un organism pluricelular legătura dintre generaţii capătă un caracter şi mai complex. Organismul pluricelular care s-a dezvoltat dintr-o singură celulă fecundată nu transmite descendenţilor în formă finită creierul său, scheletul, ficatul, inima etc. Legătura dintre generaţii se realizează la un nivel celular. În această organizare celulară este inclus sub formă de cod molecular programul care dirijează repetarea tipului de metabolism la generaţiile următoare; pe această bază se transmit caracterele speciei şi ale individului.

Am vorbit mai înainte despre însemnătatea considerabilă a înţelegerii faptului că tocmai codificarea informaţiei în structurile moleculare genetice de ADN (rareori de ARN) şi transmiterea ei din generaţie în generaţie, precum şi autoreproducerea şi modificarea ei în cazul apariţiei mutaţiilor constituie esenţa eredităţii. Pe de altă parte, transmiterea informaţiei, în celulă, de la ADN la locurile de sinteză a proteinelor prin sistemul moleculelor de ARN-i şi recepţionarea şi prelucrarea informaţiei primite din mediul extern constituie baza orientării

Scanned with OKEN Scanner

și sistematizării proceselor biochimice care determină specificul și conținutul dezvoltării. Fenomenele de ereditate și dezvoltare care alcătuiesc esența vieții se bazează pe metabolizarea și autoregenerarea substanțelor pe baza aportului de substanțe nutritive și de energie din mediul extern*.

Este evident că orice control genetic asupra principalelor reacții chimice din celulă se realizează în procesul activității biologice și al dezvoltării. Codul genetic care programează procesele de dezvoltare este inclus în molecula de ADN. Moleculele de ADN au o funcție dublă, net diferențiată. Alcătuind materialul genetic al celulei, aceste molecule trebuie să fie stabile. Această însușire pare a fi determinată de faptul că moleculele de ADN au o structură dublă, în care toate grupările reactive sînt blocate din cauză că lanțurile sînt unite între ele prin punți de hidrogen. Aceasta permite moleculelor de ADN să rămînă stabile din punct de vedere chimic în circuitul metabolic al celulei vii.

Dar, totodată, la fiecare diviziune celulară, ca și în cazul multiplicării virusurilor, moleculele de ADN suferă procese de autoreproducere inițiate de scindarea moleculei în cele două lanțuri constitutive. Fiecare din aceste lanțuri își construiește alături un lanț complementar, lanțul vechi și cel nou alcătuind apoi din nou o moleculă dublă. În cazul cînd într-un asemenea lanț unitar survine vreo alterare a structurii chimice, această modificare, potrivit legilor autoreproducerii, va fi proprie tuturor descendenților acestui lanț mutant modificat.

Cu toate că principiile de bază ale autoreproducerii moleculelor de ADN sînt destul de clare, așa cum am văzut în capitolul precedent, mai rămîne totuși neclar modul cum se desfășoară autoreproducerea cromosomului, cu întreaga sa structură biologică complexă. Problema autoreproducerii structurilor biologice supramoleculare, și anume a cromosomilor, rămîne una din problemele esențiale, de a cărei rezolvare se ocupă numeroase colective de savanți.

O problemă foarte importantă este și aceea a naturii codului cu ajutorul căruia informația genetică este înregistrată în structura moleculei de ADN. Descifrarea esenței codului genetic va permite să se înțeleagă în ce fel informația înregistrată în ADN este transmisă moleculelor de ARN-i și de la acestea moleculelor de proteină. Problema transmiterii informației înscrise în materialul genetic sub forma unei anumite secvențe a nucleotidelor moleculelor de ARN-i către locul de sinteză a proteinelor, în a căror structură această informație se reproduce sub formă de combinații specifice de aminoacizi, reprezintă actualmente problema principală pentru înțelegerea modului de dirijare a sistemelor biochimice în celula vie.

În aceste procese de transmitere a informației începutul îl constituie heterocataliza pe bază de matriță a moleculelor de ARN-i în diferite porțiuni ale mole-

---

* E necesar de precizat că nici o moleculă, nici o enzimă, nici macromoleculele de ADN și ARN *nu* se autoreproduc, în sensul strict al cuvîntului. Aceasta ar însemna, de exemplu, că o moleculă de enzimă să construiască o moleculă nouă identică, ceea ce nu se întîmplă. La nivel molecular nu se poate vorbi de o autoreproducere. În schimb, protoplasma celulară, care conține aparatul nuclear și aparatura enzimatică citoplasmatică, se autoreproduce. Autoreproducerea este rezultatul unei complexe interacțiuni a structurilor protoplasmei celulare, fiecare macromoleculă (enzime, ADN, ARN etc.) fiind la rîndul ei construită prin activitatea înlănțuită a unui complex aparat enzimatic, cu sau fără folosirea unei matrițe. Autorul (N.P. Dubinin) înțelege prin autoreproducere participarea macromoleculelor de ADN ca matriță în procesul sintezei lanțurilor complimentare de ADN (sau ARN). Această participare directă la sinteza de molecule identice este proprie numai moleculelor de ADN. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

culei de ADN monocatenar*. Atît autoreproducerea, cît şi controlul genetic exercitat asupra reacţiilor chimice din celulă implică o stare activă a ADN-ului, adică prezenţa lui în stare monocatenară. Deocamdată nu ştim în ce mod se realizează, cînd are loc acest aspect al activităţii ADN-ului şi cum se îmbină el cu fenomenul de autoreproducere. Cercetătorii din zilele noastre au de rezolvat probleme esenţiale din domeniul chimiei genetice, de soluţionarea cărora depinde înţelegerea problemelor fundamentale ale esenţei vieţii.

BIBLIOGRAFIE

1. V. A. Enghelhardt, *Himiceschie aspecti nauchi o jizni*, în „Jurnal, Vsesoiuz himic. o-va", VI, 3, 244, 1961.
2. CH. B. Anfinsen, *The molecular basis of evolution*, New York, London, 1959.
3. R. P. Wagner, H. K. Mitchell, *Genetics and metabolism*, John Willey and Sons, New York, 1955.
4. M. Florkin, *Biochemical evolution*, Acad. Press New York, 1949.
5. H. J. Müller, *Genetic nucleic acid key material in the origin of life*, în „Perspectives in biology and medicine", v. 5, No. I, 1-25, 1961.
6. J. B. S. Haldane, *The biochemistry of genetics*, Allen and Unwin, London, Second impression, 1956.

8. Bazele chimice ale discontinuităţii în fenomenele eredităţii (problema genei) şi succesele obţinute în descifrarea chimică a codului informaţiei genetice

Teoria evoluţionistă care a demonstrat originea comună a tuturor formelor de viaţă de pe Pămînt se întemeiază pe recunoaşterea profundei asemănări lăuntrice a tuturor vieţuitoarelor. Această idee formulată de Charles Darwin acum mai bine de o sută de ani şi-a găsit abia recent o confirmare directă în lucrările de biochimie comparată. S-a arătat că aminoacizii, acizii nucleici, enzimele, glucidele şi mulţi alţi compuşi organici sînt principalele unităţi structurale comune tuturor formelor de viaţă. Însemnătatea acestor fapte a crescut în şi mai mare măsură după ce s-a realizat unirea geneticii, biochimiei, fizicii, chimiei şi fiziologiei într-o disciplină complexă generală, biologia moleculară**, care ana-

* Din textul parcurs s-a putut desprinde că autorul (N.P. Dubinin) foloseşte termenii de autocataliză şi heterocataliză în sens bine precizat: autocataliză = participarea ADN-ului la sinteza de molecule identice de ADN; heterocataliză = participarea ADN-ului la sinteza de molecule de ARN-i. Altfel, prin autocataliză se înţelege accelerarea unei reacţii prin produşii rezultaţi din reacţie, iar prin heterocataliză sau cataliză eterogenă (în opoziţie cu cataliza omogenă) se înţelege cataliza în mediu eterogen (în opoziţie cu cataliza în mediu omogen). — *N.R.*

** Biologia moleculară (şi submoleculară) se ocupă cu mecanismele moleculare (şi submoleculare) ale mişcării biologice sau cu aspectul molecular (şi submolecular) al mişcării biologice, adică este un alt nume dat fizicii şi chimiei biologice. Biologia moleculară include genetica moleculară. Fiziologia care studiază funcţia de la celulă pînă la organismul întreg pe toate nivelele morfofuncţionale nu poate fi inclusă în biologia moleculară ci, din contră, fiziologia, prin fiziologia celulară, include biologia moleculară, mecanismul duplicării ADN-ului şi mecanismul sintezei specifice a proteinelor fiind verigi ale procesului complex al asimilaţiei, care împreună cu dezasimilaţia formează laturile principale ale contradicţiei specifice mişcării biologice. — *N.R.*

lizează esența procesului de sintetizare a principalelor substanțe în celulă, precum și esența fenomenelor eredității organismelor.

A devenit evident că în activitatea biologică a organismului, atît la formele cele mai simple, unicelulare, cît și la oricare animale și plante superioare, rolul hotărîtor îl au proteinele. Aceasta demonstrează întreaga importanță a noii științe — biologia moleculară — a cărei sarcină principală constă în studierea proprietăților vieții, lămurirea modului de organizare și funcționare a proteinelor a căror însușire principală este determinată de secvența aminoacizilor. Ereditatea, care asigură transmiterea de-a lungul generațiilor a unui tip similar de metabolism prin intermediul analogiei în sinteza proteinelor, este legată de transmiterea unor programe specifice și individualizate înscrise în structurile moleculare ale acizilor nucleici, mai ales în cele de ADN. În acest sens, principala problemă pe care o are de rezolvat știința în zilele noastre este descifrarea codului cromosomilor, adică elucidarea modului în care secvența nucleotidelor în moleculele de ADN capătă o semnificație genetică. În citoplasma celulei există și alți purtători materiali ai eredității, însă toate cunoștințele de care dispunem dovedesc că ponderea acestora în transmiterea informațiilor este foarte redusă în comparație cu aceea a cromosomilor. În legătură cu aceasta sînt explicabile interesul și eforturile orientate în sensul cunoașterii informației genetice codificate în cromosomi, unde aceasta este înregistrată în secvența liniară a nucleotidelor.

Am prezentat unele fapte care demonstrează că cromosomul reprezintă o garnitură discontinuă de „cuvinte" care îi alcătuiesc vocabularul genetic. Baza materială în care sînt codificate aceste „cuvinte" (capacitatea de a programa sinteza unei anumite proteine în celulă), reprezentată de segmente mici ale cromosomului sub forma de sedii distincte, a căpătat denumirea de genă.

Discontinuitatea, adică structura genică a cromosomilor, face parte din structura informației genetice, fiind una dintre principalele trăsături ce caracterizează unitatea tuturor formelor organice. Principiile codului genetic sînt legate de problema genei. Organizarea genică a eredității este problema centrală a întregii genetici; numai pe baza ei poate fi descifrată organizarea biologică a eredității. Rezolvarea acestei probleme ne oferă cheia modificării dirijate a eredității organismelor.

Ce știm, așadar, despre natura chimică, structurală și biologică a genei? Vom începe cu un istoric semnificativ al acestei probleme. Însuși termenul de genă a fost propus în anul 1907 și pus la baza denumirii noii științe despre ereditatea și variabilitatea organismelor — genetica. Noua epocă în cercetările genetice, inaugurată în primul an al secolului al XX-lea, după descoperirea pentru a doua oară a legilor lui Mendel, a început cu analiza clasică a formelor de moștenire a celor mai variate proprietăți ale plantelor și animalelor superioare. A fost studiată genetica mazărei, porumbului, drosofilei, laurului, șoarecelui, omului și a altor specii.

Un număr uriaș de cercetări au stabilit principalele legi ale eredității. În capitolul ce urmează, consacrat legilor de transmitere a proprietăților ereditare, vom vedea cum prin încrucișare poate fi continuat tabloul segregării, precum și alte fenomene legice ale eredității. Principalul eveniment legat de efectuarea acestor cercetări l-a constituit descoperirea discontinuității eredității bazată pe existența unei unități elementare a eredității care a căpătat denumirea de factor ereditar sau genă. Descoperirea unității elementare a eredității la începutul secolului nostru a stîrnit un viu interes în rîndul specialiștilor. De atunci,

Scanned with OKEN Scanner

problema genei figurează pe ordinea de zi a cercetărilor genetice, apoi citologice, iar în zilele noastre — a celor biochimice, chimice, fizice și cibernetice. În prima perioadă a dezvoltării sale, teoria genei a alimentat numeroase ipoteze metafizice, care afirmau că genele sînt unități autonome și invariabile, care, asemenea elementelor din natura anorganică, ar crea prin combinațiile lor întreaga diversitate a lumii vii.

Totuși, chiar din al treilea deceniu al secolului nostru teoria genelor a suferit modificări serioase. Dacă mai înainte se enunțau ipoteze și tot felul de presupuneri cu privire la natura materială a genei, ulterior, după cercetările efectuate pe drosofilă, care au căpătat o deplină confirmare mai întîi la porumb și mazăre și mai tîrziu la toate organismele, s-a demonstrat că genele se află în cromosomi fiind așezate în ordine liniară. Cromosomii conțin sute și mii de gene, legate într-o singură grupare ligaturală. În procesul meiozei*, în timpul conjugării cromosomilor, la formele heterozigote, genele se pot recombina prin încrucișarea reciprocă a cromosomilor omologi. Frecvența acestei încrucișări depinde de distanța dintre gene: aceasta a permis construirea unor hărți genetice liniare ale cromosomilor.

În aceeași perioadă s-a analizat temeinic și problema mutațiilor. A fost infirmată părerea existentă pînă atunci cu privire la invariabilitatea genelor. Totodată s-a descoperit tabloul dependenței mutațiilor, adică al modificării genelor, atît de influența tulburărilor metabolice, cît și de acțiunea directă a factorilor mediului extern. S-a demonstrat că o genă reprezentînd o alelă normală poate fi profund modificată, luînd cele mai diferite forme care, în ansamblu, au căpătat denumirea de serii de alele. Pentru materializarea ideii de genă au căpătat o importanță deosebită datele din domeniul citogeneticii, știință care a unit genetica cu citologia și a permis localizarea poziției diferitelor gene în interiorul cromosomului cu ajutorul cercetărilor microscopice. În această privință un rol important l-au avut cercetările făcute asupra cromosomilor în profaza meiozei și în anumite stări interfazice. În profaza timpurie, cromosomii sînt despiralați, întinși în fire lungi, pe care se conturează net deosebiri ce pot fi observate cu microscopul. În unele cazuri, în celule specializate, cromosomii se prezintă sub formă de structuri gigante, extrem de accesibile analizei citogenetice. Un exemplu îl constituie cromosomii interfazici din nucleele celulelor glandelor salivare ale larvelor de drosofila. În figura 65 (sus, la dreapta) este prezentată imaginea microscopică a unei garnituri obișnuite de cromosomi dintr-o celulă din ovarul de drosofila, care conține patru perechi de cromosomi. În centrul discului metafazic (indicat prin săgeată) se află doi cromosomi punctiformi (a patra pereche de cromosomi). Mai jos este prezentată o porțiune a nucleului dintr-o celulă din glandele salivare ale larvei de drosofila la aceeași scară. Ea reprezintă o pereche de cromosomi giganți conjugați între ei cu o parte a așa-numitului cromocentru, de care sînt legați prin porțiunile lor terminale. Vedem cît de mare este deosebirea atît în ceea ce privește proporțiile, cît și particularitățile structurale dintre cromosomii obișnuiți (în mitoză) și cromosomii din glandele salivare. Într-adevăr, la acești cromosomi ai drosofilei s-a putut localiza cu exactitate poziția a numeroase gene, au fost studiate diferite restructurări cromosomice care apar sub acțiunea radiațiilor ionizante și a altor factori ce determină apariția modificărilor ereditare (fig. 66).

---

* Prin meioză se înțeleg primele două diviziuni de maturare a gameților. În urma acestor diviziuni gameții au o singură garnitură de cromosomi (sau o garnitură haploidă). Etimologic. *meiosis* = reducere. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

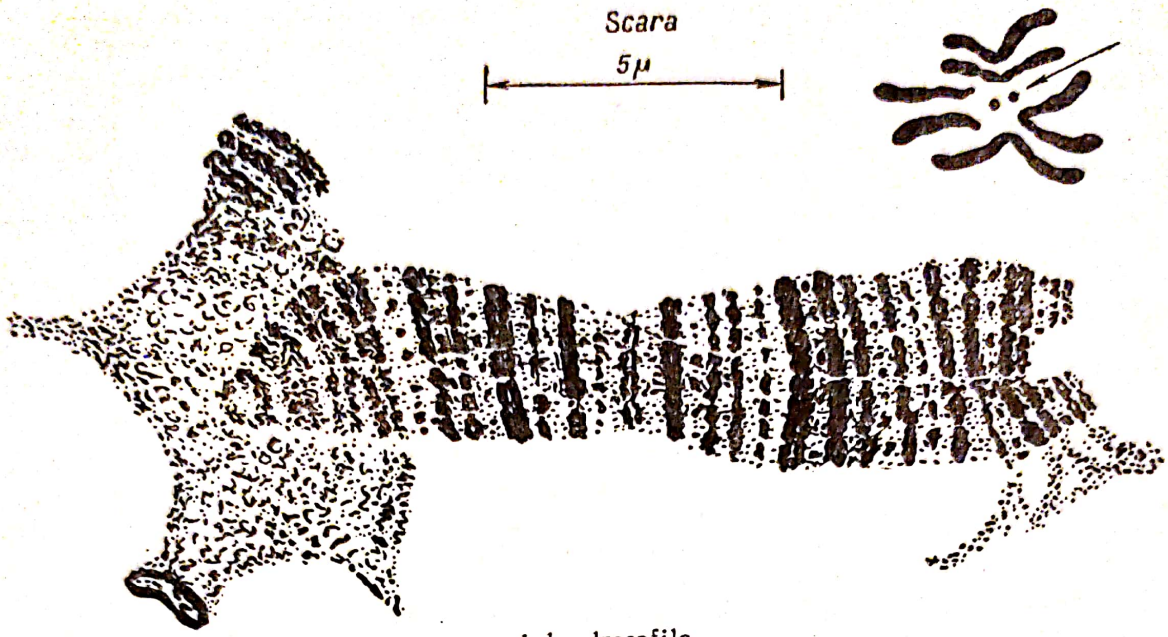


Fig. 65. Perechea a patra de cromosomi la drosofila

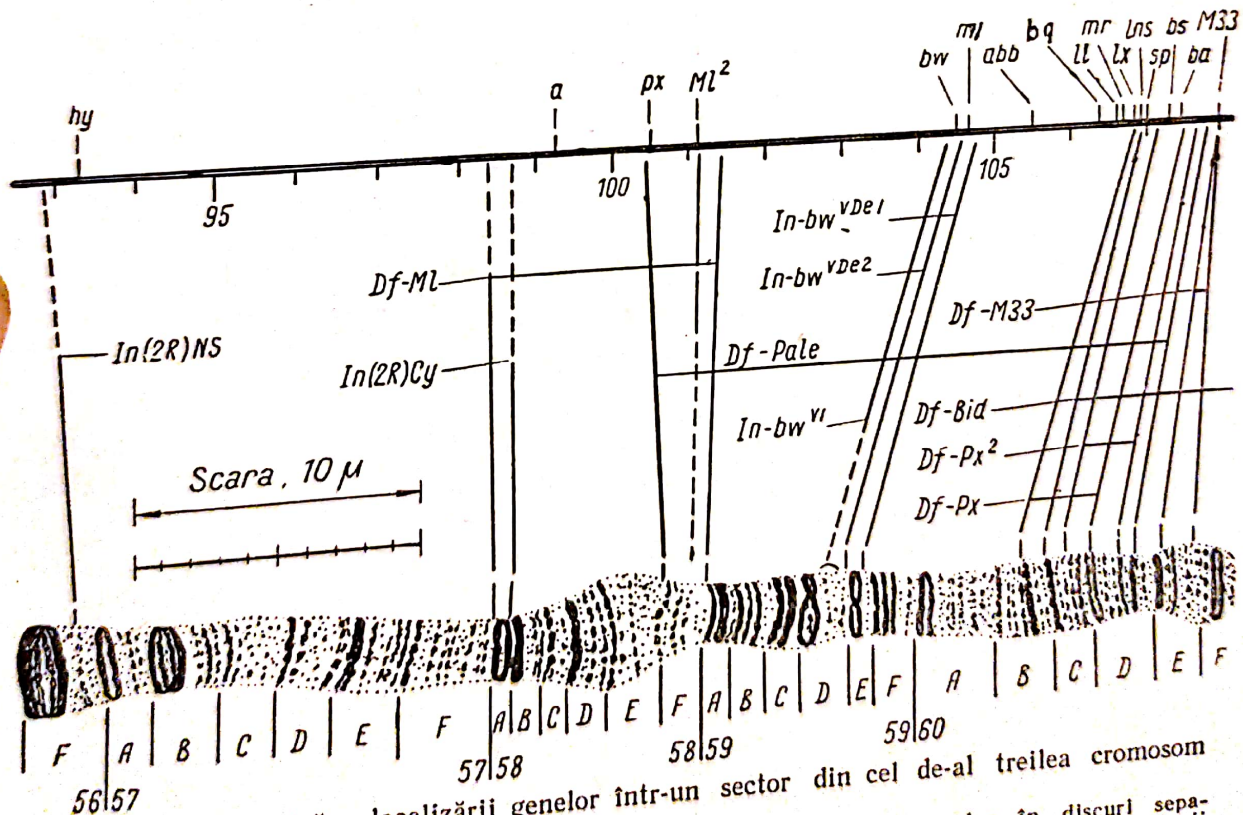


Fig. 66. Harta citologică a localizării genelor într-un sector din cel de-al treilea cromosom gigant la drosofila.

Sus — harta genetică a acestei porțiuni a cromosomului; *los* — localizarea genelor în discuri separate, stabilită prin analiza comparativă a modificărilor genetice care duc la alterarea structurii cromosomilor. Simboluri: *In* — inversiune; *Df* — deficit; *Cy* — genă a aripilor încovoiate; *bw* — ochi căprui; *Pr* — rețeaua de nervuri a aripilor și alte modificări ereditare (mutații) la drosofila etc.

Scanned with OKEN Scanner

Stabilirea legăturii dintre mutațiile genetice și anumite locusuri din cromosomi a avut o importanță extrem de mare, însă această descoperire a servit uneori la tratarea dogmatică a problemei naturii genei. Genele au început să fie considerate ca un corpuscul biologic elementar, caracterizat prin trei trăsături principale. De pe poziția teoriei cromosomice din acea perioadă, gena era privită ca o unitate de mutație, de recombinare și de funcție. Concepția asupra genei ca unitate de mutație presupune că în cazul unor modificări, adică în cazul formării de noi alele, gena în ansamblu se transformă din punct de vedere chimic. În perioada respectivă, fenomenul era comparat cu izomeria din chimie. Alelele erau privite ca izomeri, constînd dintr-o singură moleculă de proteină. În acea perioadă se considera că nu ADN-ul ci proteina reprezintă substratul material al eredității. Teoria genei ca unitate de recombinare presupunea că încrucișarea reciprocă are loc numai între gene, de aceea gena ar fi o unitate elementară de recombinare: cromosomii omologi pot face între ei numai schimburi de gene întregi și nu de părți ale acestora, întrucît încrucișarea nu ar putea interesa numai o parte a genei. În sfîrșit, ideea că gena este o unitate funcțională presupunea caracterul elementar al efectelor funcționale ale genei (lipsa vreunei integrări funcționale a părților sale).

Un punct de cotitură în istoria teoriei genei l-a constituit descoperirea fenomenului care a căpătat denumirea de alelism în trepte. Studiul unei întregi serii de radiomutații *achaete* și *scute* (reducerea perișorilor de pe torace, de pe cap și de pe alte părți ale corpului) efectuat în anii 1929—1932 pe drosofila a arătat că vechea concepție asupra indivizibilității genei, a integrității ei în procesele de mutație, cît și în cursul îndeplinirii funcțiilor ei nu poate explica aceste fapte noi. Analiza naturii mutațiilor *achaete* și *scute* s-a făcut pe calea experimentării funcționale a alelismului lor. Este știut că genele care ocupă în cromosom diferite locuri au funcții diferite. De aceea, dacă gena *A* programează în celulă sinteza unei enzime, iar gena *B* pe aceea a altei enzime, atunci heterozigotul dublu *AaBb* va poseda ambele enzime *. Alelele unei gene sînt localizate în punctele omologe a doi cromosomi, de aceea heterozigotul cu două alele *a*/*a'* se va manifesta ca fenotip mutant în cazul în care *a'* este o alelă dominantă, sau ca fenotip intermediar între *a* și *a'*, în cazul lipsei unei dominanțe depline, sau, în sfîrșit, atît ca fenotip *a*, cît și *a'* în cazul lipsei totale a dominanței **. Ultimul caz va fi discutat mai jos, la genetica grupelor sanguine la om.

---

* La organismele diploide, genomul (totalitatea cromosomilor) este format din două garnituri de cromosomi pereche. Cromosomii pereche din același genom (cromosomii omologi din cele două garnituri) au grupări ligaturale identice. Fiecărei gene dintr-un cromosom îi corespunde o genă pereche în cromosomul omolog sau fiecare genă este în dublă alelă (o alelă pe fiecare cromosom pereche). Un caracter aparent (fenotipic), *A*, poate fi determinat de o genă în dublă alelă *AA*; în acest caz pentru caracterul *A* există homozigoție sau fenotipul este homozigot genotipic. Caracterul fenotipic *A* poate corespunde și formulei genotipice *Aa*: prin *A* se notează caracterul, prin *a* lipsa caracterului sau însușirii respective la fenotip. În acest caz, fenotipul este heterozigot genotipic și *A* caracter dominant, iar *a* (lipsa însușirii) caracter recesiv. Lipsa fenotipică a caracterului corespunde în acest caz genotipului homozigot *aa* sau, cu alte cuvinte, caracterele recesive nu apar fenotipic decît atunci cînd gena corespunzătoare este în dublă alelă.

În exemplul dat, fiind vorba de două caractere fenotipice *A* și *B* ele pot corespunde genotipic formulei *AA* și *BB* (dublu homozigot = homozigot și pentru caracterul *A* și pentru caracterul *B*) sau formulei genotipice *Aa Bb*, în cazul în care *A* și *B* sînt caractere dominante, iar fenotipul este dublu heterozigot (heterozigot și pentru caracterul *A* și pentru caracterul *B*). — *N.R.*

** În exemplul următor se presupune existența unui caracter determinat de formula genotipică homozigotă *aa* (caracter recesiv, care apare numai la fenotipii homozigoți genotipici). Dacă *a'* este alela mutantă a genei *a*, genotipul *aa'* este un heterozigot și fenotipul va fi determinat de raportul de dominanță dintre cele două alele: *a* (normală) și *a'* (mutantă). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

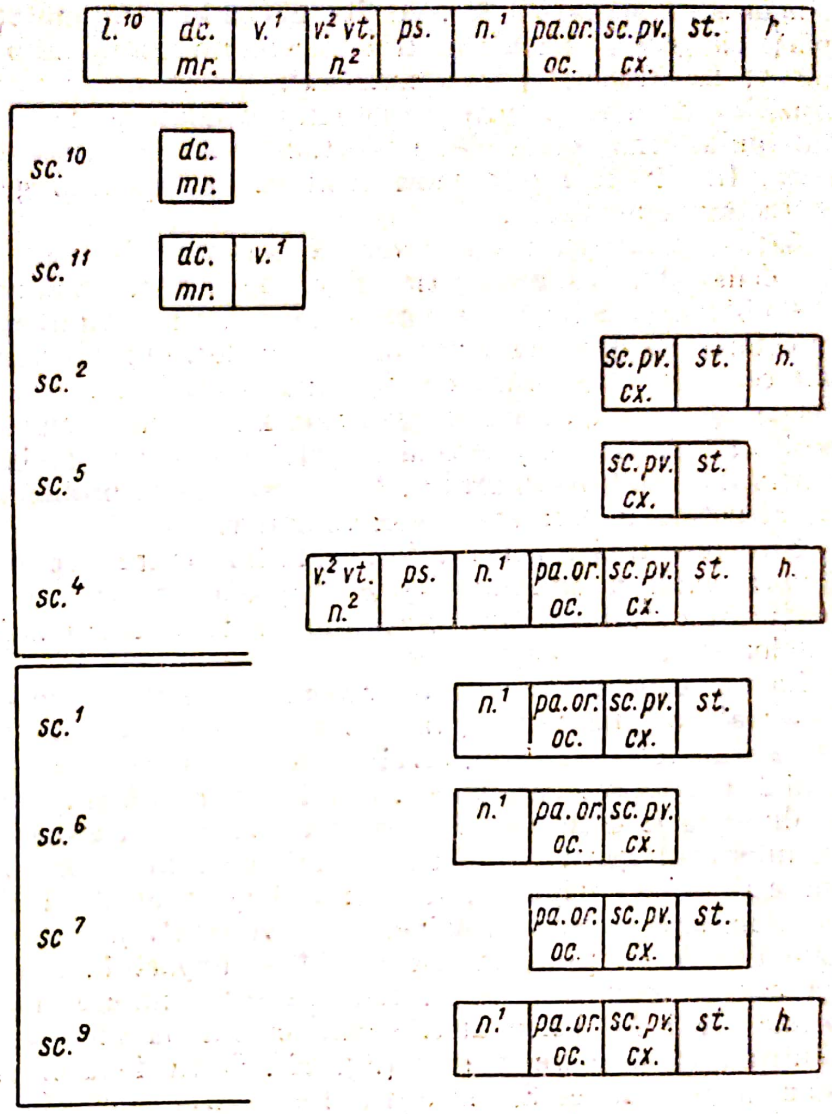


Fig. 67. Structura bazigenelor *achaete-scute* în extremitatea stîngă a cromosomului sexual la drosofila.

Vedem că diferite mutaţii transgene (sc^1, sc^{10} etc.) cuprind diferite porţiuni ale unei gene complexe, divizate în centri diferiţi. Cercetări făcute în anii 1927—1932.

O trăsătură remarcabilă descoperită cu prilejul cercetărilor alelismului în trepte, faze şi stadii a fost cumularea particularităţilor genetice ale sistemului genelor independente şi ale sistemului alelelor. S-a constatat că diferite alele din această serie, în cazul cumulării lor în heterozigot, manifestă parţial tabloul clasic al alelismului, iar în ceea ce priveşte restul caracterelor, se comportă ca locusuri independente ale cromosomului. Această analiză a permis să se tragă concluzia că gena reprezintă un sistem complex în care, în cazul mutaţiilor, diferite părţi se modifică în mod diferit. În unele cazuri, două alele recesive ale uneia şi aceleiaşi gene modificau atît de mult diferiţii centri ai genei, încît heterozigoţii lor (a/a') nu manifestau nici un fel de caractere mutante şi erau fenotipic normali. Toate acestea au demonstrat că gena reprezintă un sistem complex şi nicidecum un corpuscul indivizibil: acest sistem nu putea fi caracterizat ca unitate de mutaţie, de recombinare şi de funcţie.

Analiza funcţională a alelismului a permis să se întocmească un plan liniar al genei *achaete-scute* (fig. 67), să se arate grupele de alele din zona transgenelor *scute*, transgenelor *achaete* şi din porţiunea care cuprinde ambele aceste zone. Termenul de transgenă a fost dat grupei de centri care se modificau într-un

Scanned with OKEN Scanner

singur act al mutației. Se vede (fig. 67) că în cazul mutațiilor se modifică diferite părți ale genei, de unde rezultă că gena nu reprezintă o unitate de mutație. Sub raport funcțional, gena *achaete-scute* a fost de asemenea descompusă într-un complex de unități, care au căpătat denumirea de centri. Pentru desemnarea întregului complex de efecte funcționale ale genei s-a propus termenul de bazigenă. În sfîrșit, a fost demonstrat că în cuprinsul genei *achaete-scute* are loc încrucișarea reciprocă.

Astfel, și sub acest aspect vechea concepție și-a pierdut fundamentul, întrucît s-a demonstrat că gena poate fi divizată prin *crossing-over*.

Problema structurii fine a genei a căpătat în ultimii ani o nouă dezvoltare prin cercetările de genetică a microorganismelor. O particularitate esențială a acestor noi cercetări este aceea că, folosind principial aceleași metode din punct de vedere genetic și în analiza generală a structurii complexe a genei, au ajuns la aceleași rezultate ca și cercetările privind alelismul gradat în trepte, faze și stadii, rezolvînd însă într-un mod cu totul nou această problemă, legînd structura genei de structura moleculară a cromosomilor.

Structura fină a genei a fost stabilită pentru o serie de cazuri. Ne vom opri asupra analizei structurii genei triptofansinteazei la ciuperca *Neurospora*, a porțiunii histidinice din cromosomul bacteriei *Salmonella* și a grupei *r* II (forma petelor sterile) la bacteriofag.

La neurospora, într-un cromosom (al doilea cromosom) (fig. 68, II) este localizată o genă ce programează sinteza fermentului triptofansinteaza, a cărui acțiune am cercetat-o mai, sus cînd am analizat căile de sinteză a triptofanului. Tulpini de neurospora care posedă diferite alele au fost încrucișate între ele, descoperindu-se că la descendenții unor heterozigoți, ca urmare a încrucișării reciproce în interiorul genei triptofansinteazei, apar forme normale. Am mai arătat că mutațiile genei triptofansinteazei se împart în două clase principale: cele ce programează sinteza proteinei inactive (PA^+) și cele lipsite de această capacitate (PA^-). În plus, mutanții PA^+ se împart în trei clase, potrivit acțiunii lor asupra celor trei reacții principale din sinteza finală a triptofanului. Din prima clasă fac parte alelele care determină pierderea proprietății catalitice pentru toate cele trei reacții (fig. 69). Din a doua clasă fac parte alelele corespunzătoare reacției 3, iar din a treia clasă — alelele pentru reacțiile 1 și 2. După cofermenți și alte particularități, fiecare din aceste clase poate fi împărțită în unități și mai mici. Rezultatele obținute prin *crossing-over* au permis întocmirea hărții genei triptofansinteazei, înfățișată în fig. 70.

Porțiunea histidinică din cromosomul de *Salmonella* a fost supusă unei analize amănunțite. Pe baza exemplului mutației din bazigena *scute-achaete* am văzut

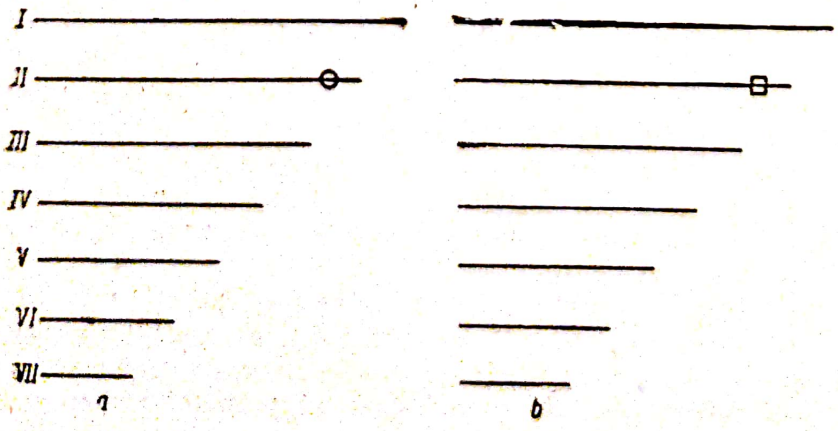


Fig. 68. Cromosomi de *Neurospora* și locusul ce programează sinteza triptofansinteazei, a cărui acțiune asigură reacția finală la formarea triptofanului:
a — 7 cromosomi normali de *Neurospora* cu alelă normală, care asigură formarea triptofansinteazei; *b* — mutații în care locusul pierde capacitatea de a asigura apariția în celulă a triptofansinteazei.

Scanned with OKEN Scanner

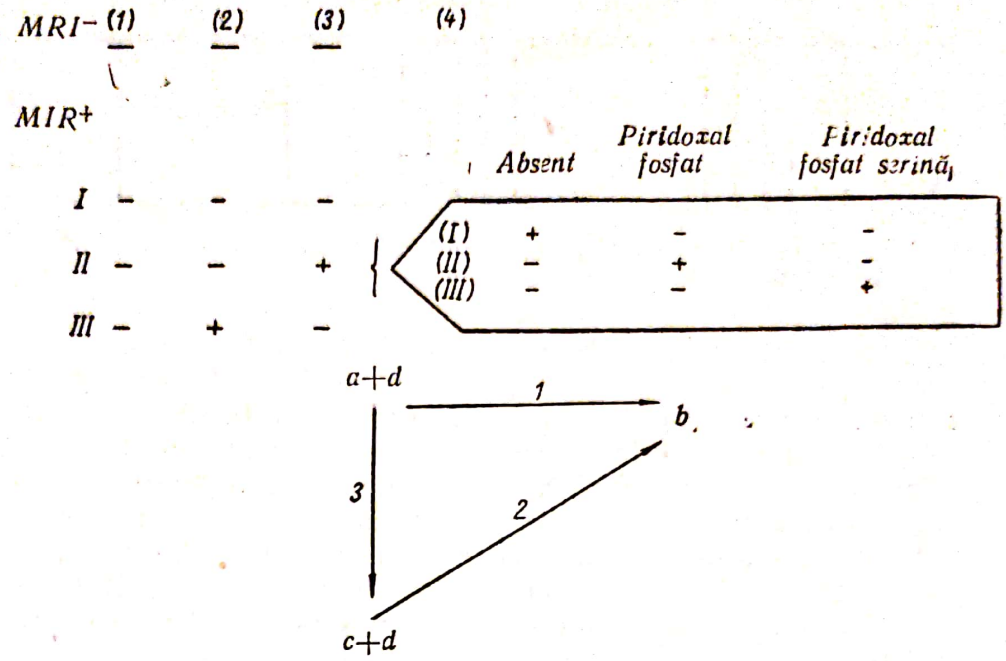


Fig. 69. Clasificarea mutanților ce împiedică formarea triptofansinteazei:

1, 2, 3 — tipul reacțiilor tulburate de mutații; MRI⁻ — lipsa de material de reacție încrucișat (proteină); MRI⁺ — prezența materialului (proteina); *4* — cofactori: *a* — indolglicerolfosfat; *b* — triptofan; *c* — indol; *d* — serină.

că mutațiile alelei ce condiționează dezvoltarea aceluiași fenotip esențial (reducerile perișorilor de pe diferite părți ale corpului) sînt înlănțuite pe o mică porțiune a cromosomului. Același tablou a fost constatat și la *Salmonella*, unde în special locusurile care determină sinteza histidinei sînt concentrate în cuprinsul unei porțiuni foarte mici a cromosomului. Analiza genetică a structurii părții histidinice și a altor părți similare la *Salmonella* (triptofan, cisteină ș.a.) s-a făcut cu ajutorul transducției, prin studierea la mutanți a unor proprietăți secundare ca: rezistența la temperatură, necesitățile de substanțe nutritive și reacția la acțiunea unor gene specifice — „inhibitoare". S-a constatat că porțiunea histidinică este alcătuită din șapte locusuri (fig. 71), patru din ele (*A*, *B*, *C*, *D*) fiind situate într-o ordine ce corespunde succesiunii reacțiilor chimice în sinteza histidinei *. În desen s-a arătat că imidazolglicerolfosfatul (locusul *A*) se transformă în imidazolacetolfosfat→*L*-histidinolfosfat, apoi în *L*-histidinol → *L*- histidinal și *L*-histidină (locusul *D*). Pentru locusurile *E* și *F* și părți ale locusului *A*, natura succesiunii transformărilor biochimice n-a fost încă stabilită, de aceea au fost marcate cu semn de întrebare. În cuprinsul fiecăruia din locusuri apar numeroase mutații independente (indicate cu cifre în figură). În cazul transducției, fiecare din aceste mutații oferă frecvente recombinări spre tipul sălbatic cu alele ale tuturor celorlalte locusuri, însă puține recombinări cu alelele propriului locus. Toate mutațiile din cuprinsul locusului sînt așezate în ordine liniară. În desen sînt hașurate sectoarele 41 și 22, care indică lipsa porțiunilor menționate. Mutanții reprezentați în figură cu cercuțe negre n-au prezentat transducții între ei. Poziția și proprietățile lor au fost studiate în mutații repetate și în transducții de locusuri vecine.

Fiecare locus al porțiunii histidinice are o funcție discontinuă, proprie, programînd sinteza enzimei specifice. În acest caz locusul poate fi definit ca un sistem funcțional unitar, dar care se lasă subdivizat prin mutații și recombinări.

* E vorba de locusurile care hotărăsc sinteza celor cinci enzime care realizează lanțul reacțiilor biochimice de la imidazolglicerolfosfat la L-histidină. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

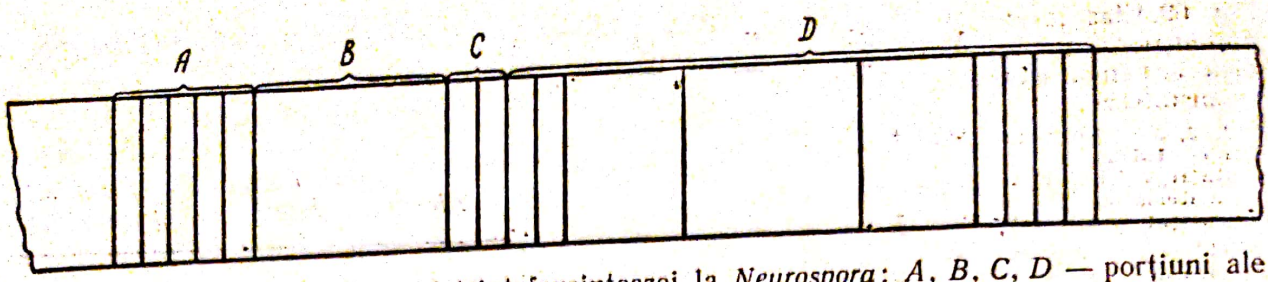


Fig. 70. Harta structurii genei triptofansinteazei la *Neurospora*: *A*, *B*, *C*, *D* — porţiuni ale genei complexe.

Cu prilejul studierii bacteriofagului T_4 s-a făcut o analiză amănunţită a porţiunii genetice care conţine mutaţii ce modifică formele şi dimensiunile plajelor sterile. Genetica fagului T_4 a fost studiată destul de temeinic *. El se comportă ca un organism haploid, care are o singură grupare ligaturală. Clasificarea şi analiza poziţiei mutaţiilor alelelor ce modifică forma plajelor produse de bacteriofagul T_4 au permis întocmirea hărţii a două locusuri situate alături (fig. 72).

Cantitatea totală de ADN cuprinsă într-un fag T_4 este egală cu $4 \cdot 10^5$ nucleotide. Materialul genetic reprezintă circa 40% din cantitatea de ADN a fagului, deci informaţia lui genetică este înregistrată în $1{,}6 \cdot 10^5$ nucleotide. Avînd în vedere caracterul dublu al moleculelor de ADN, rezultă că lungimea totală a materialului genetic al fagului T_4 trebuie să fie de $8 \cdot 10^4$ perechi de nucleotide **.

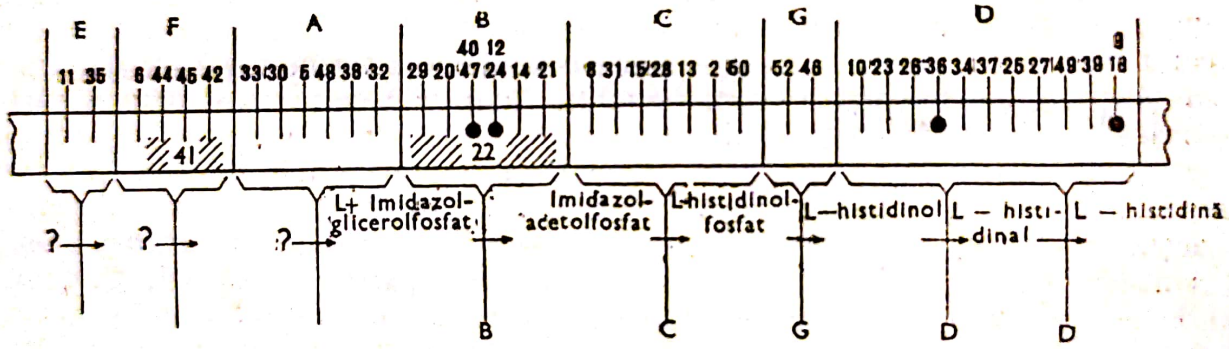


Fig. 71. Harta porţiunii histidinice a cromosomului la *Salmonella*

Materialul genetic al fagului este strîns într-o grupare ligaturală în care au loc în total 800% recombinări***. În cazul unei repartiţii uniforme a recombinărilor de-a lungul cromosomilor obţinem 0,01% recombinări la o pereche de nucleotide. Astfel, dacă două mutaţii dau împreună circa 0,01% recombinări, aceasta înseamnă că se află una faţă de cealaltă la o depărtare nu mai mare de o pereche de nucleotide.

Atunci cînd au fost studiate dimensiunile segmentelor de ADN care se modifică prin mutaţii s-a arătat că dimensiunea cea mai mare a unui asemenea segment

---

* Infestarea cu bacteriofag a unei culturi microbiene pe mediu solid determină apariţia unei zone — plaje sau pete — de liză. Aspectul plajei de liză (mai clară sau mai puţin clară etc.) este dependent de proprietăţile transmisibile ereditar ale fagului. — *N.R.*

** $1{,}6 \cdot 10^5 = 40\%$ din $4 \cdot 10^5$. $1{,}6 \cdot 10^5$ nucleotide $= 0{,}8 \cdot 10^5$ perechi de nucleotide sau $1{,}6 \cdot 10^5 : 2 = 0{,}8 \cdot 10^5 = 8 \cdot 10^4 = 80\,000$ perechi de nucleotide. — *N.R.*

*** În 100 de cazuri de recombinări se întîlnesc 800 de recombinări efectuate pentru 80 000 de perechi de nucleotide ($8 \cdot 10^4$), ceea ce face 0,01% recombinări pentru o pereche de nucleotide (800 : 80 000). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

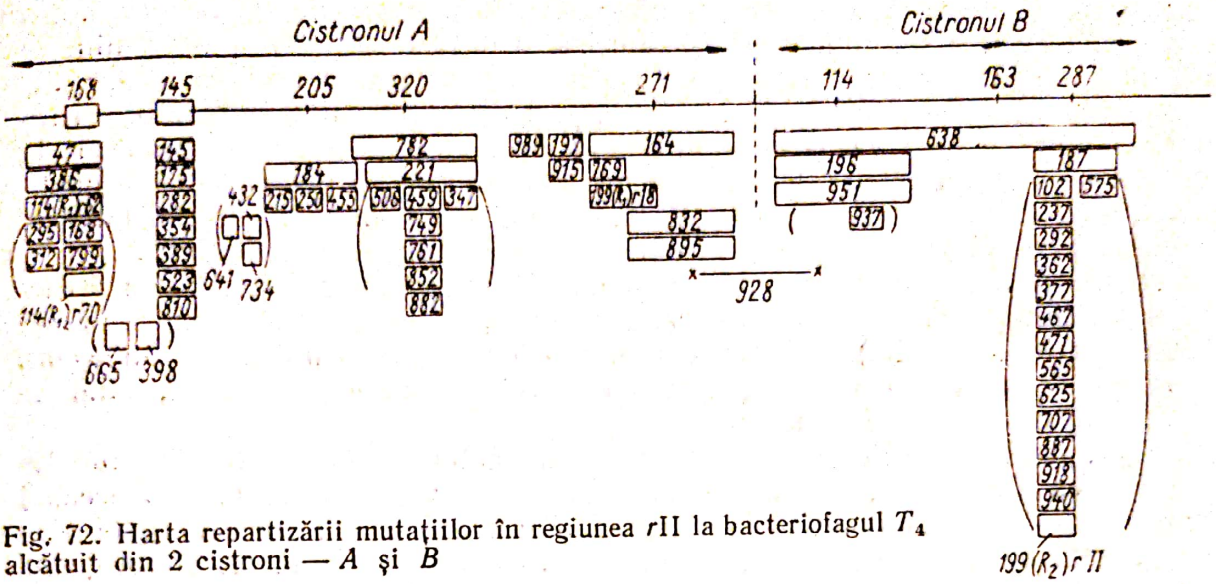


Fig. 72. Harta repartizării mutaţiilor în regiunea *r*II la bacteriofagul T_4 alcătuit din 2 cistroni — *A* şi *B*

este de circa 0,05% recombinări. Rezultă că modificarea structurii chimice a cîtorva nucleotide (nu mai mult de cinci) este cauza apariţiei mutaţiilor *. Mărimea segmentului de ADN ocupat de o genă complexă funcţională, în care modificarea diferitelor sale părţi duce la mutaţii în dimensiunile petelor sterile determinate de fag este relativ foarte mare. În cuprinsul acestei gene complexe sînt posibile probabil aproape o sută de mutaţii cu localizări diferite.

Aşadar, prin studierea geneticii fagilor a devenit posibilă descoperirea corelaţiei dintre harta genetică liniară şi baza ei moleculară. Lungimea genetică calculată în procente de recombinări a fost transformată în lungime moleculară şi exprimată prin cantităţi de nucleotide.

În lumina tuturor datelor arătate mai sus devine clar faptul că vechea idee despre genă ca unitate de recombinare, mutaţie şi funcţie genetică nu mai poate fi acceptată în prezent. Vedem că prin *crossing-over* (încrucişare reciprocă) se produc recombinări genetice în interiorul genei, scindînd-o şi ducînd la schimbul de părţi distincte între cromosomii omologi **. În lumina acestor fapte, este clar că unitatea de recombinare este, din punct de vedere fizic, mai mică decît gena. Această unitate poate fi socotită ca cel mai mic element (indivizibil) în organizarea liniară a cromosomului. Am văzut că în filamentul de ADN al fagului, această unitate indivizibilă de recombinare o constituie perechea de nucleotide. Pentru unitatea de recombinare, a cărei dimensiune poate să difere la organisme după structura cromosomilor, s-a propus denumirea specială de recon.

Potrivit vechii concepţii despre genă s-a crezut că în cazul mutaţiilor gena se modifică în întregime. Acum vedem că transformările datorite mutaţiilor pot cuprinde diferite părţi, adeseori chiar foarte neînsemnate, ale genei. Aceasta a avut ca urmare crearea de termeni ca transgenă sau muton. Transgena nu reprezintă o unitate determinată, întrucît mărimea ei în cuprinsul genei poate fi

* Exprimarea frecvenţei recombinărilor în perechi de nucleotide. — *N.R.*

** La bacteriofag este vorba de încrucişări reciproce între segmentele analoge ale unicului cromosom (segmente din cromosomii fagilor normali sau mutanţi care se dezvoltă parazitînd aceeaşi celulă bacteriană). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

diferită. Se poate vorbi doar despre dimensiunile minime ale transgenei, adică despre modificarea minimă în dimensiuni a structurii chimice a ADN-ului ce duce la apariţia mutaţiei. La fagul T_4 mărimea transgenei oscilează între una şi cinci perechi de nucleotide. Mai înainte, pe baza exemplului mutaţiilor eritrocitelor falciforme, am văzut că modificarea hemoglobinei nu se referă decît la un aminoacid. În lumina noilor date despre cod, aceasta nu înseamnă decît modificarea unui nucleotid din gena respectivă (modificare în grupa de cod din trei nucleotide) ce programează sinteza hemoglobinei cu respectiva structură.

Porţiunea cromosomului cu funcţii asemănătoare (reducerea perilor la drosofila, a porţiunii histidinice la *Salmonella*, a porţiunii ce acţionează asupra formei petelor sterile la fag etc.) a căpătat denumirea de bazigenă sau cistron. După cum am văzut, dimensiunea acestei porţiuni este relativ mare pentru fag, fiind de cîteva sute de perechi de nucleotide.

Aşadar, putem privi fiecare genă ca unitate de material genetic, avînd ca funcţie programarea sintezei în celulă a unei anumite proteine specifice. Sub această formă, gena apare ca o unitate biologică. Caracteristica chimică a genei este condiţionată de faptul că materialul genetic în ansamblu, după cît se pare, este reprezentat în celulă de acizii nucleici, şi anume de ADN, la toate formele celulare şi la numeroase virusuri, şi de ARN la unele virusuri vegetale şi animale.

În trecut, în cadrul vechii concepţii despre genă, cînd aceasta era privită ca un corpuscul distinct indivizibil, ce făcea parte din structura cromosomului, se punea problema formelor de autoreproducere a genelor în procesele de înmulţire a celulelor. Acum însă, această problemă şi-a pierdut importanţa. Gena este o unitate de localizare a acizilor nucleici cu o funcţie specifică. De aceea, autoreproducerea genei este o problemă de autoreproducere a moleculei de acid nucleic. Gena este o unitate biologică în sistemul informaţiei genetice, legată de secvenţa specifică a nucleotidelor în ADN şi ARN. În ceea ce priveşte materialul genetic în ansamblu, s-a arătat pentru bacterii că acestea formează o dublă spirală (în rare cazuri o spirală unică) de ADN, în care pot intra pînă la 200 000 de perechi de baze.

Problema discontinuităţii fizice a materialului genetic nu poate fi considerată rezolvată. Nici pentru gene nu este pe deplin lămurit dacă materialul genetic este continuu sau dacă genele vecine sînt totuşi despărţite prin segmente intermediare ale ADN-ului care nu au o însemnătate genetică, deşi cistronii *A* şi *B* la fagul T_4 sînt despărţiţi unul de altul prin partea negenetică a moleculelor de ADN. În ce priveşte cromosomii din celule, există de asemenea două puncte de vedere opuse: unul care susţine continuitatea materialului genetic în cromosomi şi celălalt care susţine că materialul genetic format din molecule de ADN este subdivizat de segmente de proteină fără semnificaţie genetică.

Indiferent însă dacă gena reprezintă o parte continuă de structuri moleculare ori supramoleculare sau dacă ea apare datorită prezenţei segmentelor intergenice, funcţia genei constă în programarea catalizei eterogene ce duce în celulă la sinteza proteinelor specifice. Substanţa care transmite informaţia genetică înregistrată în structurile moleculare ale genei la locurile de sinteză protoplasmatică a proteinelor o reprezintă moleculele de ARN-i. Aceste molecule servesc ca matriţe ale codului genetic, pe care aminoacizii se distribuie într-o ordine anumită, în urma cărui fapt apar polipeptidele proteinelor specifice. Analiza funcţională a genelor arată că bazigena (cistronul) conţine cîteva sute sau cîteva mii de nucleotide necesare asigurării structurii specifice a proteinei pe care o programează. Programarea genetică a eredităţii străbate întregul organism, întrucît

Scanned with OKEN Scanner

nucleul fiecărei celule somatice conține întreaga informație genetică. Dacă amintim că corpul omului conține aproape $6 \cdot 10^{13}$ celule, va deveni clară toată puterea acțiunii chimice a nucleului celular asupra fiziologiei și funcțiilor organismului. Molecula de ADN este inclusă în cromosom sub forma unei spirale contractate. Nucleul unei celule somatice de la om conține circa 6 000 de molecule de ADN *. Acest sistem molecular genetic chimic activ este propriu fiecărei celule din organismul uman. El transmite impulsuri continue de informație genetică; aceasta din urmă programează sinteza proteinelor specifice și determină astfel întreaga specificitate a metabolismului unui organism.

Gena este reprezentată în celulă de structurile moleculelor de ADN (în esență), de aceea este cu totul firesc ca mutațiile genelor să fie legate de modificări în structura chimică a acizilor nucleici. Aceste modificări se produc prin înlocuirea bazelor, pierderea bazelor, dublarea sectoarelor intragenice care captează una sau cîteva baze și, în sfîrșit, prin apariția unor noi secvențe ale bazelor în cazul unor inversiuni sau altor transformări din interiorul materialului genetic, prin rupturi ale filamentului genetic produs în interiorul genelor. La fagi, mutațiile se produc în limitele unui singur filament genetic, ce formează o grupare ligaturală. La formele superioare ruperea filamentului genetic care duce la reordonarea materialului genetic depășește cadrul unei singure bazigene, determinînd o largă variabilitate prin apariția unor restructurări cromosomice. Totuși, dacă la ivirea restructurărilor cromosomice scindările au loc în interiorul genelor, ele trebuie să constituie cauzele tulburărilor ce intervin în structura chimică a genelor. Mai mult decît atît, chiar tulburările în poziția reciprocă a unor gene întregi sau părți ale acestora legate funcțional pot duce la modificarea funcțiilor genelor. Aceasta este cauza apariției efectului de poziție a genelor, care demonstrează că funcțiile genei depind de organizarea fiziologică a cromosomului.

Cauza modificărilor intragenice descrise mai sus, adică a transformărilor în structura chimică locală a ADN-ului, o constituie în numeroase cazuri, după cum se pare, alterarea autoreproducerii unor porțiuni mici ale materialului

---

* Conținutul în ADN al nucleelor din celulele diverselor organisme poate fi apreciat din tabelul de mai jos (după Strauss 1964):

Organisme	Perechi de nucleotide în nucleul celular	Număr de triplete	Număr de proteine codificate
Procariote:			
Bacteriofagul T_4	2×10^5	$6{,}7 \times 10^4$	335
Esch. coli	1×10^7	$3{,}3 \times 10^6$	16 500
Eucariote:			
Aspergillus	4×10^7	$1{,}3 \times 10^7$	33 250
Drosophila	8×10^7	$2{,}7 \times 10^7$	67 500
Șoarece	5×10^9	$1{,}7 \times 10^9$	4 250 000
Porumb	7×10^9	$2{,}3 \times 10^9$	5 750 000
Om	7×10^9	$2{,}3 \times 10^9$	5 750 000

Numărul de molecule de proteine trecut în ultima rubrică a tabelului este apreciat socotind la procariote un triplet de cîte două nucleotide pentru un aminoacid, iar la eucariote (diploide) două triplete a cîte două nucleotide pentru un aminoacid, iar numărul de aminoacizi mediu pentru o proteină 200, cu o masă moleculară medie de 27 000. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

genetic. Acest proces care duce la apariţia recombinărilor intragenice a căpătat denumirea de transmutaţie.

Cea mai puţin studiată proprietate a genelor este capacitatea lor de atracţie omologă, ce intervine în anumite etape ale vieţii celulei şi în primul rînd în procesul meiozei, cînd are loc conjugarea cromosomilor omologi. Modificarea experimentală a structurii cromosomilor arată că orice părticică a cromosomului decelată la microscop are în asemenea condiţii capacitatea de „a-şi găsi" omologul şi de a se conjuga cu el. Proprietatea conjugării omologe asigură importantul proces al conjugării cromosomilor în meioză, iar proprietatea conjugării complimentare, după cum am văzut mai sus, stă la baza autoreproducerii ADN-ului şi a heterocatalizei ARN-ului pe matriţele genelor.

Conjugarea diferenţiată a omologilor în cromosom poate fi demonstrată pe baza mai multor exemple. Un tablou clar îl oferă conjugarea în ansă a genelor omologe la heterozigoţi prin inversare. Inversările sînt modificări structurale ale cromosomilor, în care una din porţiunile mijlocii ale acestora este răsturnată (inversată), ocupînd în el o poziţie inversă. Astfel, dacă într-un cromosom normal ordinea locusurilor este: 1-2-3-4-5-6-7-8-9-10, în cazul inversării porţiunii 2-3-4-5-6-7-8- apare un cromosom inversat, care prezintă o nouă ordine a locusurilor, şi anume 1-8-7-6-5-4-3-2-9-10. La heterozigoţi, care au în perechea respectivă un cromosom normal şi un cromosom inversat, conjugarea cromosomilor ar trebui să fie net tulburată dacă porţiunea inversată este destul de mare. Fenomenul însă nu are loc, deoarece şi cu această structură modificată omologii „se găsesc" unul pe celălalt şi apare o conjugare caracteristică, în ansă, a perechilor de cromosomi, dintre care unul este normal, iar celălalt conţine o inversiune (fig. 73). Dacă la această conjugare, în interiorul inversiunii are loc fenomenul de *crossing-over*, atunci apare o tulburare caracteristică a structurilor cromosomice. Pe de o parte apare un fragment acentric (fără centromer) care se

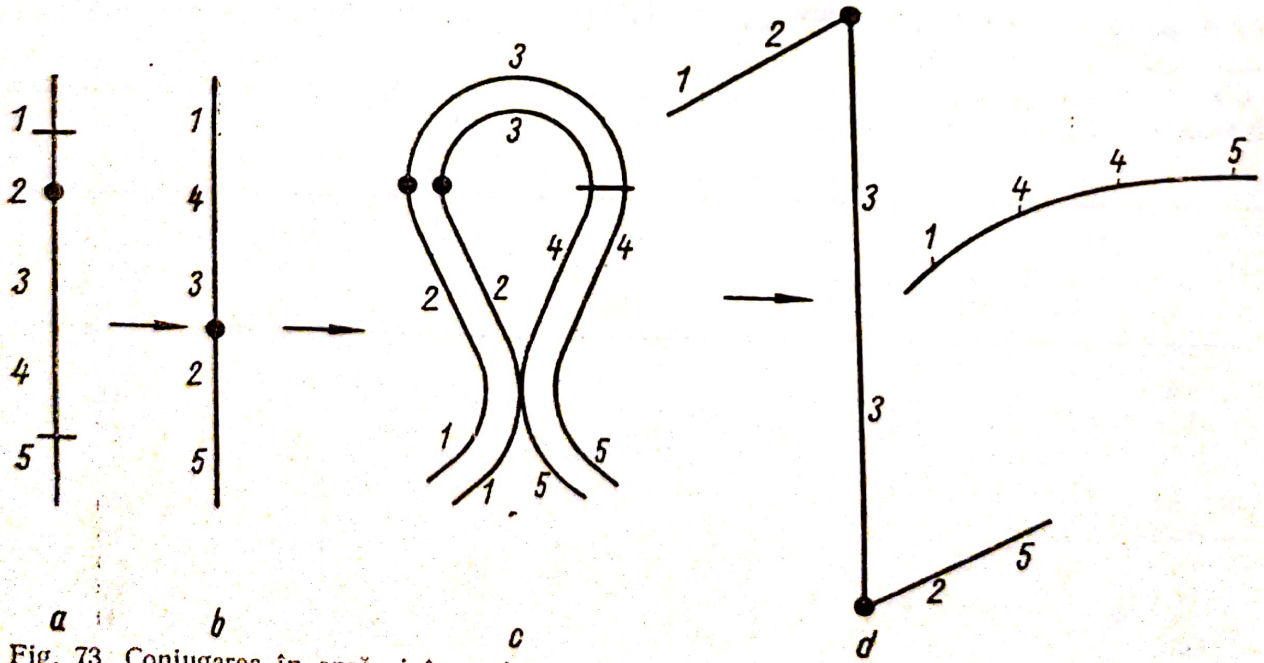


Fig. 73. Conjugarea în ansă şi încrucişarea reciprocă la heterozigoţi prin inversiune:
a — cromosomi cu ordine normală a genelor (punctul negru marchează poziţia centromerului); *b* — cromosom cu inversiunea porţiunii 2 — 3 — 4; *c* — conjugarea în ansă la heterozigoţi prin inversiune, *crossing-over* în porţiunile 2 — 3 — 4; *d* — formarea prin *crossing-over* a unui cromosom dicentric, cu două centromere, care formează puntea în mitoză (1—2—3—3—2—5), şi a fragmentului acentric (1—4—4—5).

Scanned with OKEN Scanner

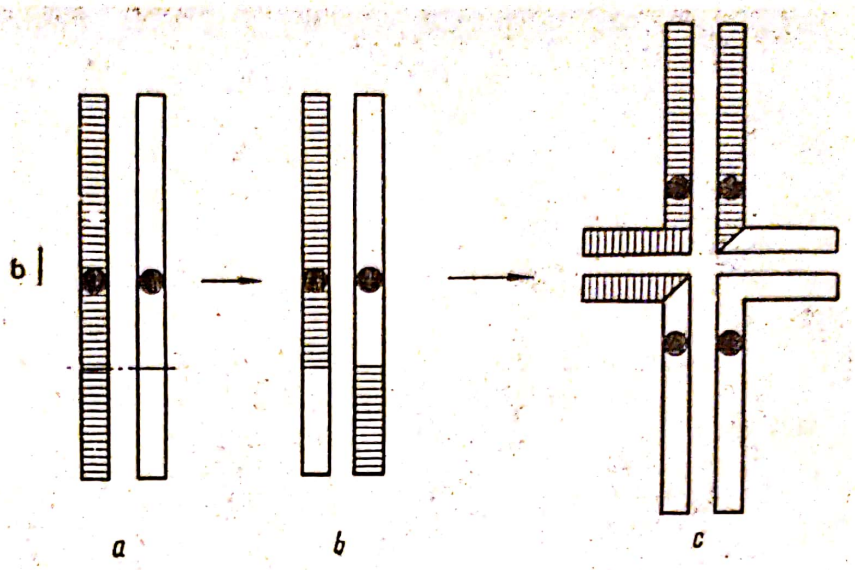


Fig. 74. Conjugarea încrucișată la heterozigoți prin translocație:
a — o pereche de cromosomi pe care este marcat locul ruperilor; *b* — o pereche de cromosomi după schimbarea porțiunilor terminale; *c* — conjugare încrucișată la heterozigoți prin translocație.

îndepărtează de cromosomii ce diverg și se resorb în citoplasmă, iar pe de altă parte se formează un cromosom dicentric (cu doi centromeri) care se întinde între cei doi poli de diviziune și formează așa-numita punte cromosomică, ce se rupe o dată cu formarea celor două celule-fiice (vezi fig. 73). În fig. 74 sînt prezentate aspecte microscopice ale conjugării încrucișate la heterozigoți potrivit translocării.

Este neîndoielnic că natura forțelor de atracție omologă a genelor, care în alte faze ale vieții celulei sînt înlocuite cu forțe de repulsie, are la baza ei fenomene fizice și chimice cu totul reale. Stabilirea naturii lor reprezintă una din sarcinile esențiale ale biologiei moleculare.

Elementul principal în problema genei îl constituie însă structura sa chimică și funcțiile sale. Problema structurii am analizat-o anterior.

Problema funcțiilor primare ale genei este legată de descifrarea calitativă a codului informației genetice și de analiza formelor de „calculare" a codului, adică de descoperirea legilor care determină sinteza produselor primare ale genei sub forma moleculelor de ARN-i. Analiza formelor de calculare a codului se poate face și potrivit structurii primare a proteinelor sintetizate, deoarece moleculele de ARN-i considerate matrițe își găsesc o reflectare directă în structura primară a proteinelor.

Am analizat anterior principiile de bază care dirijează codificarea informației genetice în moleculele de ADN. Molecula acidului dezoxiribonucleic este construită din sute de mii și chiar din milioane de nucleotide. În ea se repetă în diferite combinații reciproce patru nucleotide, care se deosebesc prin bazele azotate, și anume prin existența adeninei (A), timinei (T), guaninei (G) sau citozinei (C). În molecula acidului ribonucleic se numără mii de nucleotide, ea conținînd aceleași baze azotate ca și ADN-ul, și anume A, G și C, și în plus uracilul (U), a cărui existență, ca și absența timinei, face ca nucleotidele sale să se deosebească de cele ale ADN-ului.

Principala problemă care privește funcționarea genelor constă în a surprinde modul cum secvența nucleotidelor în acizii nucleici determină secvența aminoacizilor în proteinele respective. Cu alte cuvinte, în ce mod programul pentru organizarea aminoacizilor în proteine este „înregistrat" sau codificat în secvența nucleotidelor din acizii nucleici.

Scanned with OKEN Scanner

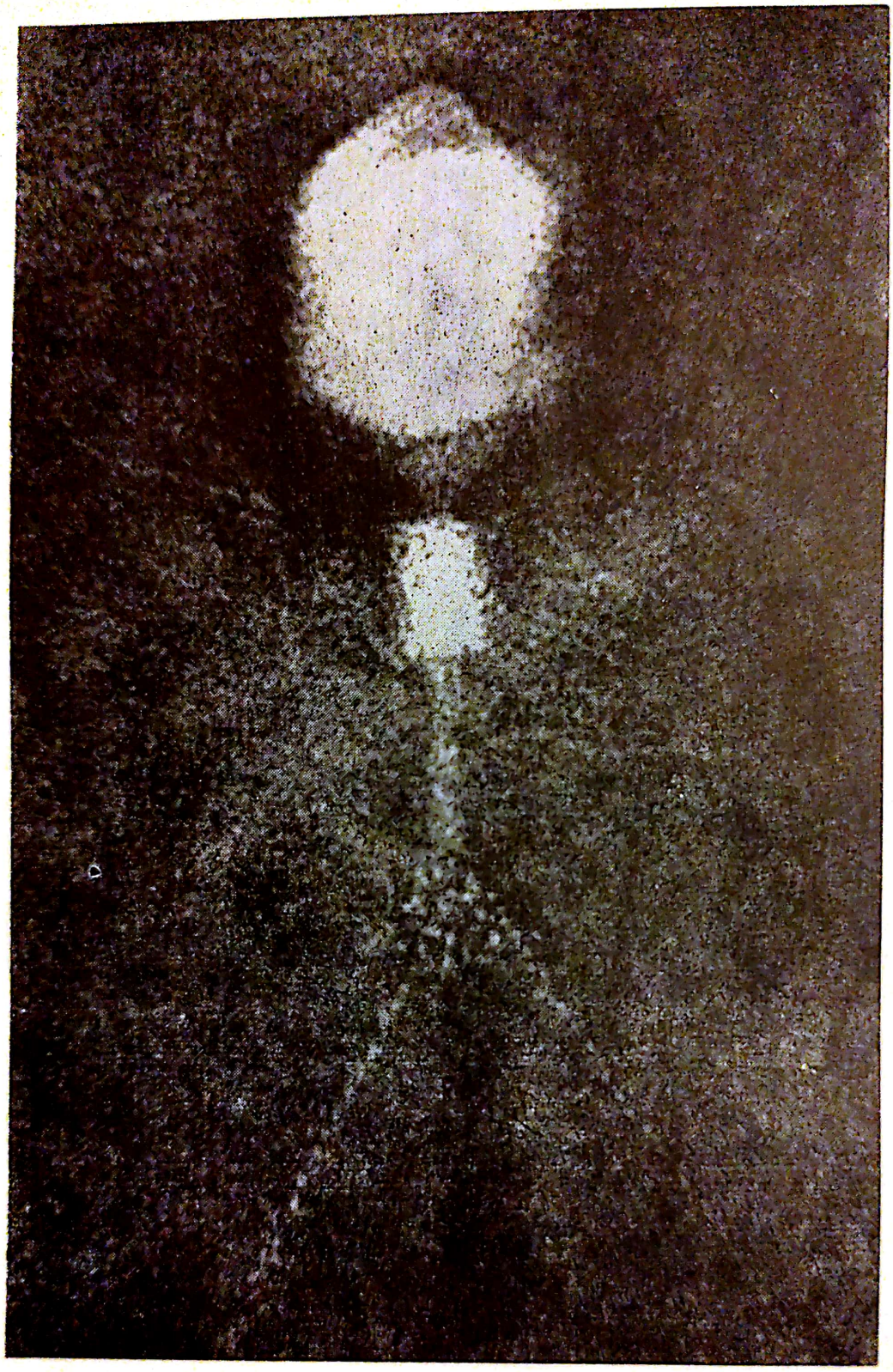


Fig. 75. Fotografia bacteriofagului T_2, microscop electronic, mărire de 500 000 de ori.

Scanned with OKEN Scanner

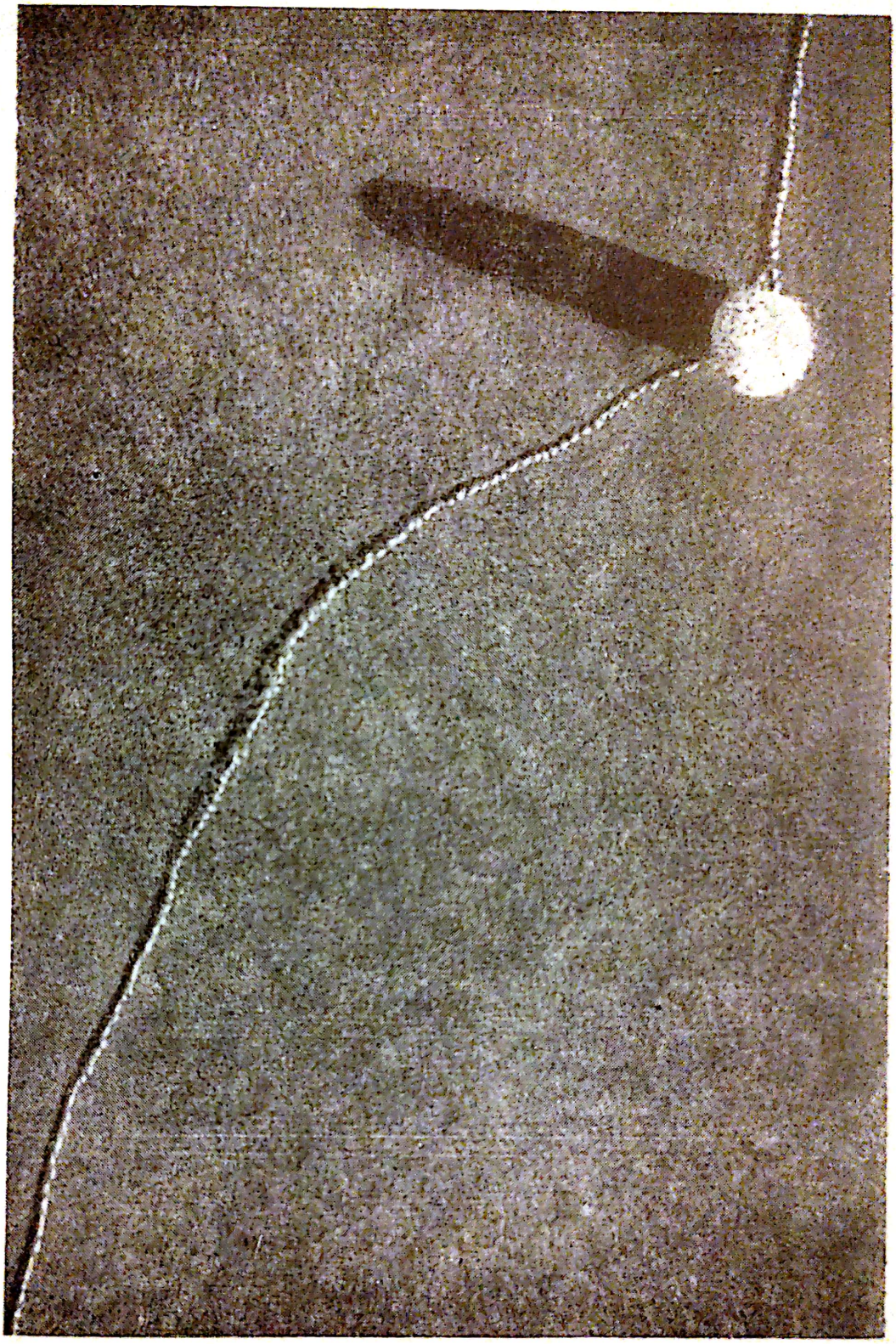


Fig. 76. Fotografia unui fragment al moleculei de ADN obținută la microscopul electronic.
Drept scară s-a luat o granulă de polistirol cu diametrul de 880 Å; lungimea fragmentului de ADN fotografiat corespunde aproximativ lungimii regiunii *r*II, cu cei doi cistroni *A* și *B*.

Scanned with OKEN Scanner

În prezent, principiile de bază ale codificării și calculării informației legate de structura genei și perspectivele descifrării codului genetic sub aspectul problemei funcționării genei sînt în mare măsură clarificate.

Să analizăm la început bazele codificării genetice și formele de calculare a informației. Întrucît aceste probleme și-au găsit rezolvarea pe baza analizei structurii și a funcționării genelor la bacteriofagul T_4, este necesar să cercetăm mai amănunțit metodele de analiză a structurii genelor la T_4. Fără aceste cunoștințe vor rămîne nelămurite căile prin care metodele genetice contemporane au permis cunoașterea fenomenelor biochimice fundamentale ce caracterizează funcțiile genelor.

Studiul geneticii bacteriofagului prezintă mari avantaje. După infectarea celulelor, la un interval de numai 20 de minute, se pot obține miliarde de fagi. Ca urmare a folosirii metodelor genetice cu extraordinarele posibilități pe care le oferă experiențele efectuate cu mase de fagi, cercetătorii aprofundează într-o atare măsură structura moleculelor ereditare, cum n-ar putea-o face deocamdată folosind metodele chimice, fizice și, în parte, chiar cele electronomicroscopice.

În figura 75 este prezentată imaginea fagului T_2 obținută la microscopul electronic, cu o putere de mărire de 500 000 de ori. Am văzut mai înainte cum în „capul" fagului, sub învelișul proteic se găsește ADN-ul, care reprezintă specificul genetic al fagului. Moleculele de ADN sînt acelea care pătrund în celula bacteriei și reorientează întreaga mașină biochimică a metabolismului celular. Într-o astfel de celulă are loc sinteza moleculelor de ADN și a proteinelor specifice fagului. Un fag pătruns în celulă se autoreproduce generînd pînă la 100 de noi fagi. Dacă vom izola un singur lanț polinucleotidic din spirala dublă a moleculei de ADN și îl vom fotografia cu ajutorul microscopului electronic, vom avea tabloul din fig. 76. Lungimea fragmentului moleculei de ADN înfățișat în figură corespunde mărimii a două gene (cistronii *A* și *B*) din fagul T_4. Ce poate oferi un asemenea tablou pentru înțelegerea structurii interne și a funcțiilor genei? Foarte puțin. Metodele genetice însă au relevat această organizare intramoleculară a moleculelor ereditare stabilind principiile esențiale ale efectelor primare ale genelor. Fundamentul necesar acestor descoperiri a fost stabilit prin întocmirea hărții genetice a genelor în zona *r*II a bacteriofagului T_4. Am văzut mai sus că la infectarea celulei bacteriei cu un singur fag, după un interval de 20 de minute în ea apar 100 de fagi. Ei infectează celulele vecine și pe întreaga suprafață a agarului din placa Petri apare așa-numita plajă. Această plajă este mai întinsă pe locurile unde se află grupe de celule distruse, ce conțin milioane sau miliarde de fagi. Fagii normali dau plaje standard tipice, obișnuite (fig. 77). Totuși, dacă fagul inițial suferă o mutație, miliardele de descendenți ai acestuia vor poseda aceeași mutație. Însăși forma plajei se va modifica, ceea ce se vede în figură, unde plaja difuză (încadrată într-un pătrat) conține forme mutante ale fagului T_4. Dacă se folosesc două tulpini diferite ale colibacilului — tulpina *B* și tulpina *K*, plajele de tip standard se dezvoltă din populațiile ambelor tulpini. Totuși petele sterile mutante apar numai din celulele tulpinii *B* (fig. 78). Incapacitatea mutanților de a forma pete sterile cu celulele tulpinii *K*, rezistente față de ei, a avut un rol important în lucrările de întocmire a hărții genetice a regiunii *r*II, la fagul T_4 *. Însăși întocmirea acestei

---

* Regiunea *r*II înseamnă regiunea II din cromosomul fagului T_4 de tip mutant *r* (*rapid lysing* = care lizează repede, cultura microbiană sensibilă, în cazul de față tulpina *B* a colibacilului *Escherichia coli*).

Corect ar trebui să se spună: regiunea II a fagului $T_4 r$. — *N.R.*

hărți a fost legată de faptul că mutanții *r*II pot crește pe celulele tulpinii *K*, atunci cînd pătrunde în aceste celule simultan și un fag nemutant, normal. Astfel celulele tulpinii *K* se deosebesc de celulele tulpinii *B* prin rezistența față de mutanți. Faptul că mutanții cresc pe celulele tulpinii *K* infectate de un fag normal arată că fagul normal introduce anumite elemente nocive pentru celulele tulpinii *K*, după care în ele începe să se înmulțească și forma mutantă a fagului care nu posedă mijloacele ce învinge rezistența celulelor tulpinii *K*. Tocmai această structură funcțională, dispărută la mutanții *r*II, a servit ca obiect pentru o amănunțită analiză genetică. Ea s-a dovedit a fi legată de o porțiune neînsemnată din structura moleculară a ADN-ului din fag pentru care, în cele din urmă, s-a descoperit nu numai structura, ci și principiile de codificare a informației genetice.

Ca material pentru întocmirea hărții regiunii *r*II a servit cercetarea a mii de mutanți ce modifică forma plajelor, găsite prin infestarea colibacilului din tulpina *B*. Procesul de apariție a mutațiilor este prezentat în fig. 79. Vedem cum un fag din una din plaje (fig. 79, I, 1) pătrunde în celula bacteriei tulpinii *B* (fig. 79, I, 2). Fagul introduce dublul filament molecular de ADN în corpul bacteriei, unde începe autoreproducerea acestor structuri moleculare (fig. 79, I, 4). Dintre noile molecule de ADN, una suferă mutația (este marcată cu negru într-o porțiune a filamentului din fig. 79, I, 5). După înmulțirea fagului, bacteria se lizează (fig. 79, I, 6), iar fagul infestează noi celule bacteriene. Dintre plajele noi una are o formă deosebită: ea a apărut dintr-o grupă de celule (fig. 79, I, 7) în care prima fusese infestată cu un fag mutant (fig. 79, I).

Experiențele de recombinare a mutanților se fac cu ajutorul infectării concomitente a celulelor bacteriene cu fagi diferiți. În cazul prezenței pe celulele bacteriene a unui mare număr de fagi dintre aceștia, în celulă pătrund simultan doi-trei sau un număr mai mare. În cazul folosirii amestecului a doi mutanți diferiți ai fagului T_4 (fig. 79, II ,1), în celulă ajung ambele tipuri de mutanți. Aspectul pătrunderii a doi mutanți diferiți ai fagului T_4 poate fi văzut în fig.79, II, 2, 3. În cazul autoreproducerii în această celulă, majoritatea descendenților aparțin fie unuia, fie celuilalt tip mutant inițial (fig. 79, II, 4). Totuși un mic număr de fagi sînt noi. Aceștia apar prin recombinări între mutanții inițiali, care fie că dispun de ambele modificări mutante, fie că sînt normale, lipsite de mutații. Aceste forme recombinate sînt prezentate în fig. 79, II 5—6. Vedem că alături de locusurile mutante, marcate prin porțiuni negre în diverșii fagi, apar și fagi cu două porțiuni negre (mutanți dubli) și alții fără porțiuni negre (normali). În cazul infectării noilor celule bacteriene cu amestecul de fagi din celula lizată (fig. 79, II, 6), care în esență este alcătuit din formele mutante inițiale, vedem cum din celulele tulpinii *B* (fig. 79, II, 7) se dezvoltă o mulțime de plaje. Dacă vom însămînța însă acest amestec de fagi pe celulele tulpinii *K* tabloul se va schimba radical. Toate formele mutante vor pieri, se vor dezvolta numai cîteva forme normale recombinate ale fagului (fig. 79, II, 8). Oricît de rare ar fi aceste recombinări, ele pot fi depistate prin însămînțarea fagului pe un substrat reactiv, reprezentat de celulele tulpinii *K*. Sute de milioane de descendenți pot fi studiați pe baza apariției acestor recombinări. Ne dăm astfel limpede seama cît de extraordinare sînt avantajele pe care le oferă fagul în comparație cu viețuitoarele superioare. Frecvența recombinărilor este determinată de distanța dintre porțiunile recombinate de-a lungul filamentului cromosomic*.

* Este vorba de încrucișarea reciprocă dintre cromosomii mutanților care se dezvoltă simultan în aceeași celulă bacteriană. — *N.R.*

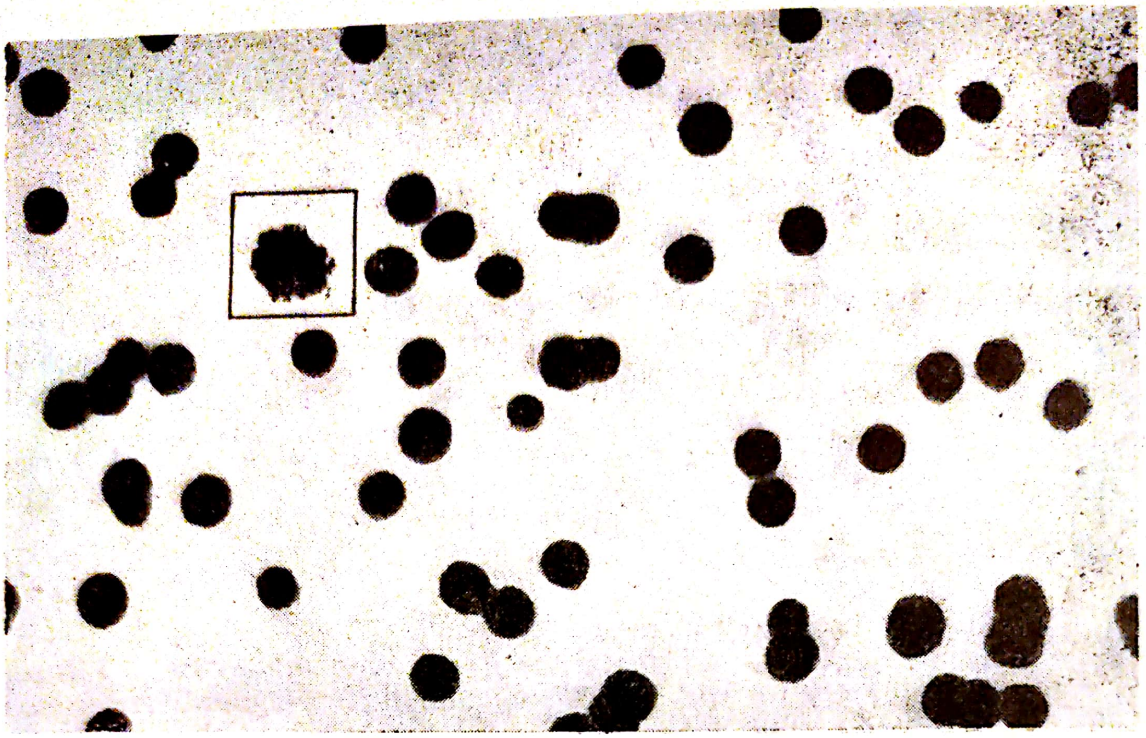
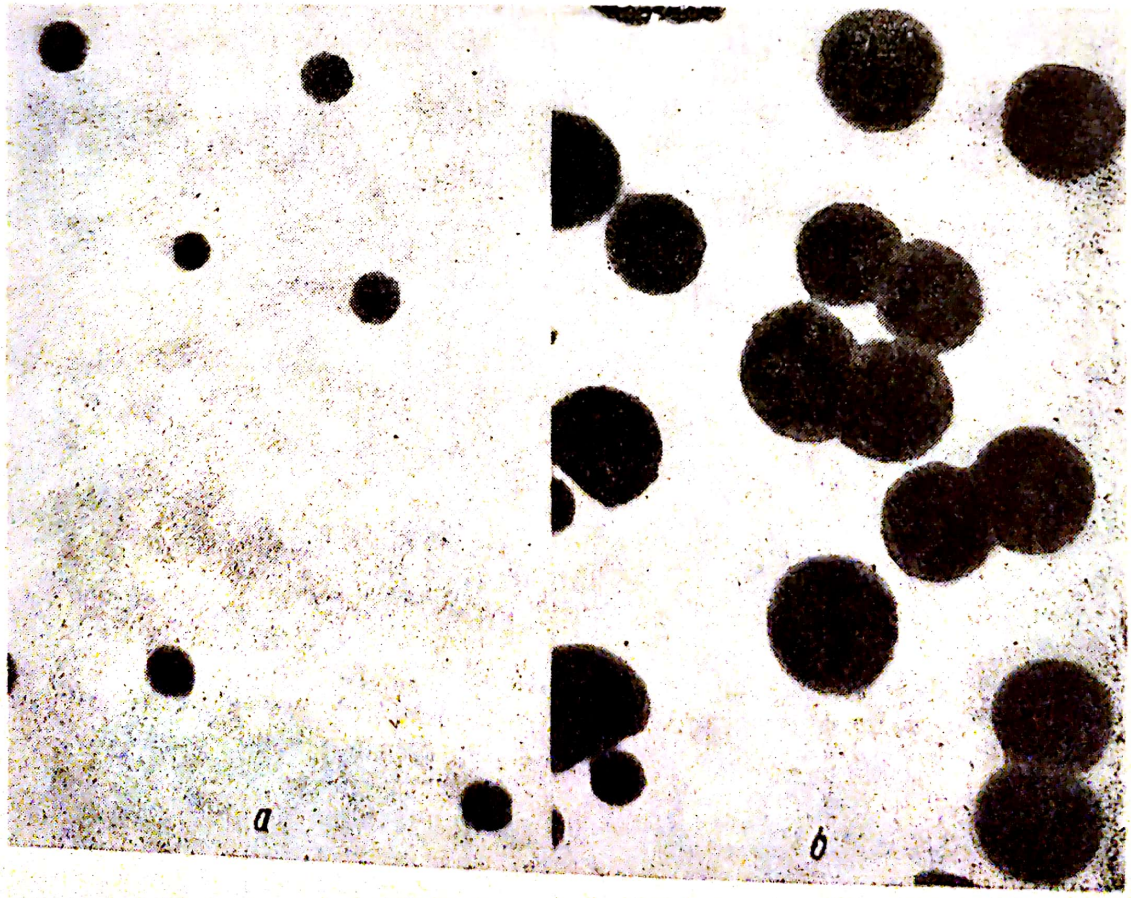


Fig. 77. Imaginea unor plaje normale pe care le formează bacteriofagul (în pătrat este o plajă difuză, dată de un bacteriofag mutant).

Fig. 78. Infectarea celulelor tulpinilor *B* şi *K* ale colibacilului cu un amestec de forme mutante şi normale de bacteriofag.

a — infectarea celulelor tulpinii *K* numai cu fag normal; *b* — infectarea cu toate tipurile de fagi a celulelor tulpinii *B* şi formarea a diferite plaje.



Scanned with OKEN Scanner

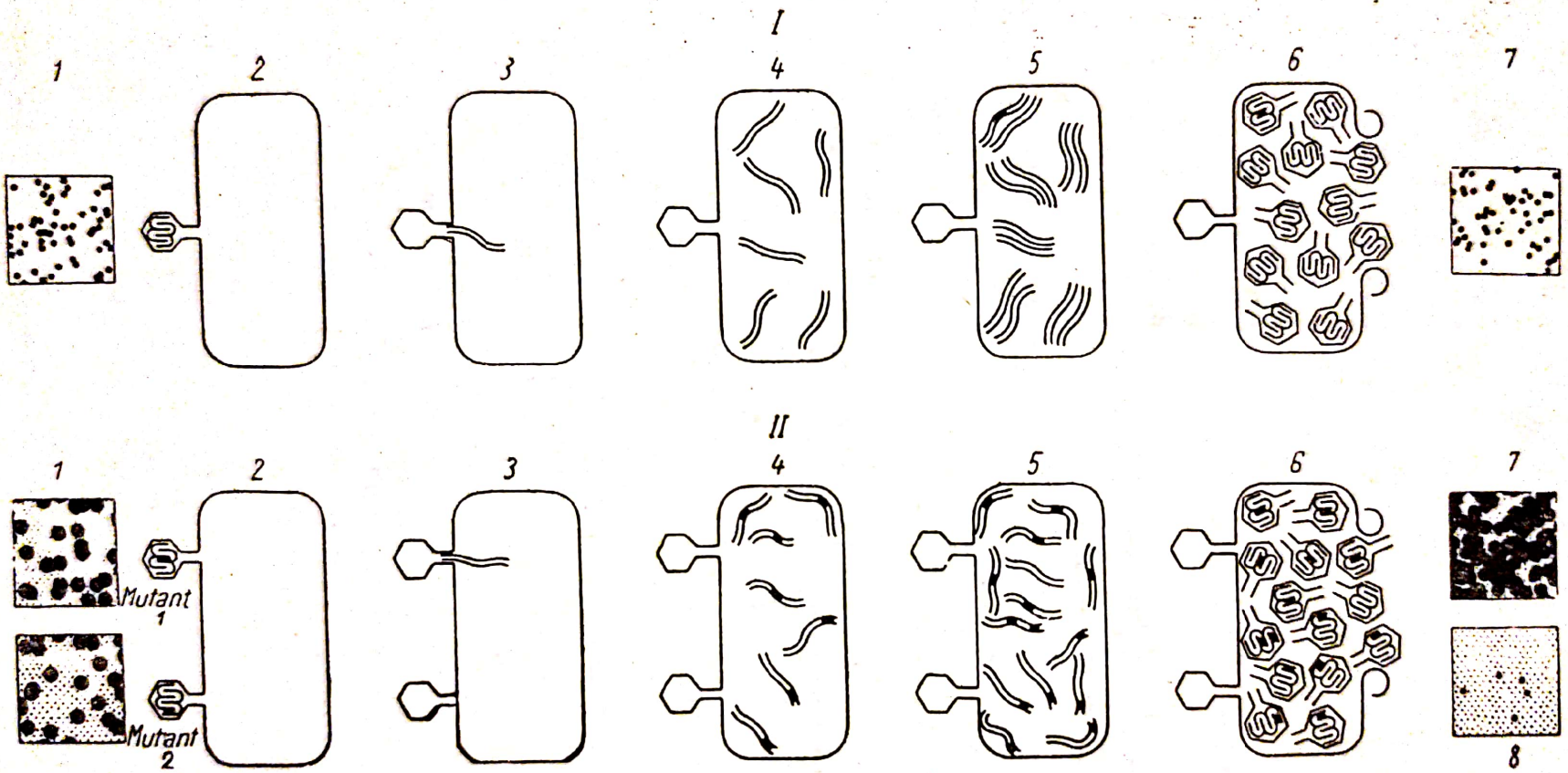


Fig. 79. Procesul mutației (I) și al recombinării (II) la bacteriofag.

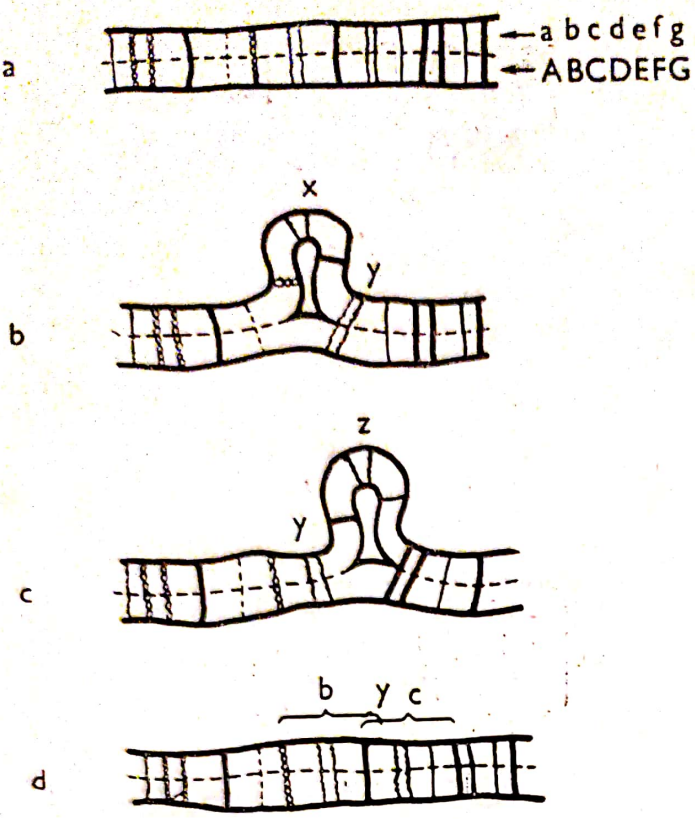


Fig. 80. Localizarea genei în cromosomul drosofilei:

a — conjugarea a doi cromosomi normali; *b* — deleția I în cromosomul de jos. Cromosomul de sus formează în acest loc o ansă în care se află genele *X*, *Y*, pierdute odată cu deleția; *c* — deleția II. În ansă sînt localizate genele *Y*, *Z*; *d* — harta delețiilor cu un disc comun. Întrucît ambele anse conțin gena *Y*, se pare că gena este localizată în discul marcat de acolade.

La fag putem studia recombinarea dintre zonele omologe ale diferitelor molecule de ADN, deoarece la experiență participă sute de milioane și miliarde de filamente de ADN, între care are loc schimbul de segmente. Este imposibil să se realizeze o astfel de experiență cu cromosomii vieţuitoarelor superioare. Pentru bacteriofag, metoda analizei prin recombinări poate epuiza toate schimburile posibile ale unui sector mic din structura moleculei de ADN. S-a constatat că în acest caz posibilitatea de analiză a schimbului de segmente, pe filamentul de ADN fagic, se prezintă astfel încît se pot obține recombinări între mutații situate una față de cealaltă la distanță de un nucleotid.

Totuși, chiar și în experiențele cu bacteriofagi „încrucișarea" a mii de mutanți și studierea recombinărilor dintre ei este o problemă dificilă. Această cercetare implică milioane de infectări concomitente. Sarcina a fost mult mai economicos realizată, folosindu-se metoda deleției. Încă din cercetările asupra drosofilei, porumbului și a altor organisme s-a observat că diferite porțiuni ale cromosomilor dispar, pot lipsi (deleție) *. Deleția poate fi de diferite dimensiuni, de la cele perfect distincte la microscop (fig. 80) și pînă la pierderile submicroscopice de material genetic. În figură este înfățișat modul de localizare a unei gene în cromosomul drosofilei prin metoda deleției **. În filamentul de ADN al bacteriofagului nu putem descoperi nici cu microscopul electronic suprimarea unei porțiuni din structura moleculei de ADN, dar apariția delețiilor poate fi stabilită prin metode genetice. Este știut că mutațiile genice, care nu sînt decît modificări ale structurii chimice a unui anumit locus al cromosomului, pot suferi ulterior și alte transformări mutante. Dintre aceste noi mutații, pentru cercetările noastre prezintă un deosebit interes apariția de mutații inverse, adică apariția unei alele normale din una mutantă. Deleţiile nu au această proprietate, dat fiind că reprezintă pierderi materiale din substanța genetică. Această metodă de diferențiere a deleţiilor de mutații după capacitatea ultimelor de a da mutații inverse a fost folosită pentru căutarea deleţiilor la bacteriofag. Experiențele au arătat că la fag mutațiile care modifică formele petelor sterile se împart într-adevăr în două grupe net distincte. Din prima grupă fac parte deleţiile care nu au capacitatea

* Deleție sau suprimare (*delere* = a suprima, în limba latină).

** Prin examinarea cromosomilor giganți din celulele glandelor salivare ale larvei de *Drosophila*. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

de a trece prin mutaţii inverse spre alela normală, iar din cealaltă grupă, mutaţiile genice care se transformă în alele normale pe calea mutaţiilor inverse, atît în condiţii normale, cît şi sub acţiunea factorilor mutageni—radioactivi şi chimici. Studierea cîtorva sute de mutaţii de tipul deleţiilor lipsite de capacitatea de a da mutaţii inverse a arătat că ele au o mărime diferită şi sînt aşezate în ordine liniară în interiorul moleculelor de ADN. Dispoziţia reciprocă a mutaţiilor genice din aceeaşi porţiune a filamentului de ADN al fagului a fost studiată pe cale experimentală prin recombinări între mutantul genic respectiv şi o anumită deleţie. În figura 81 *a* sînt arătate patru deleţii diferite în zona *r*II: deleţia *A* — desprinderea întregii zone experimentate; deleţiile *B*, *C*, *D* — desprinderea a diferite porţiuni ale acestei zone.

În cazul cercetării unei mutaţii noi, cu o localizare necunoscută, s-au făcut experienţe de recombinare a acestei mutaţii X cu deleţii. În experienţe cu deleţia *A*, mutaţia nu dă naştere la recombinări (fig. 81 *b*). Aceasta arată că mutaţia X a apărut în porţiunea cuprinsă de deleţie. Acelaşi fenomen s-a petrecut în experienţe cu deleţia *B*. Însă în experienţe cu deleţia B şi într-o măsură şi mai mare cu deleţia *D*, mutaţia *X* dă recombinări (fig. 81 *b*), ce duc la apariţia unor forme normale ale fagului şi a unora care posedă şi mutaţii şi deleţii. Compararea

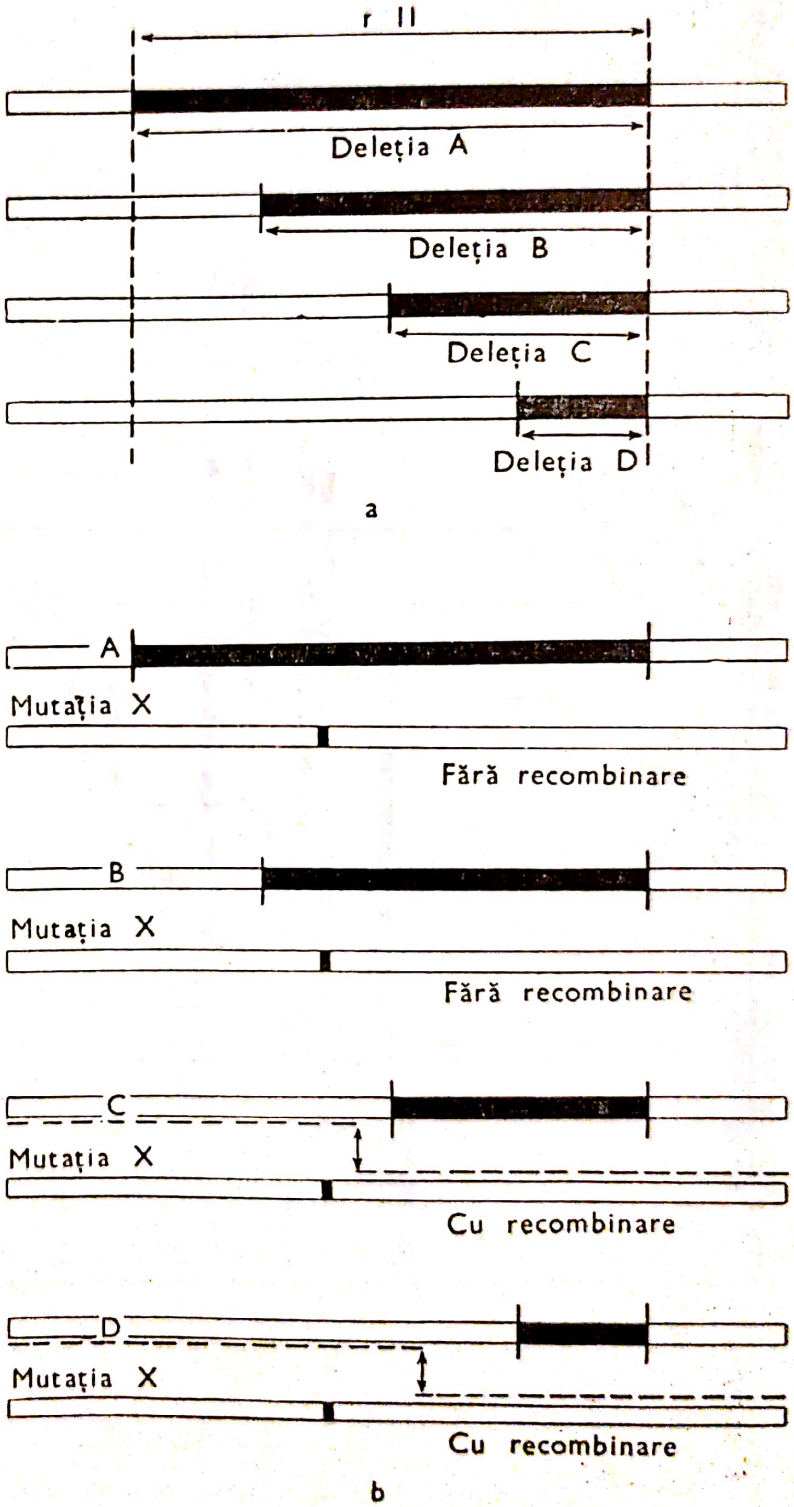


Fig. 81. Metoda deleţiilor folosită pentru localizarea mutaţiilor în zona *r*II la bacteriofagul T_4.

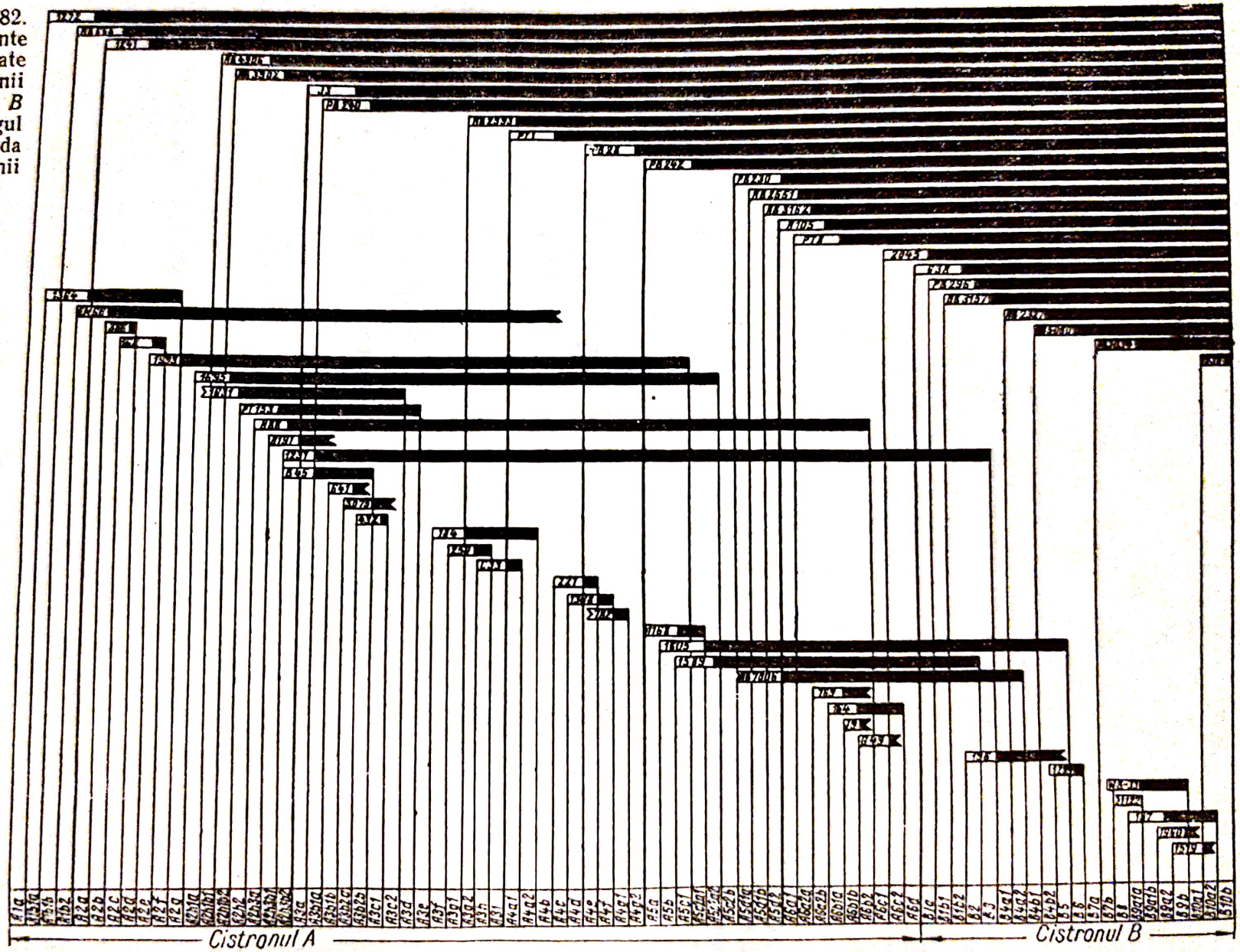


Fig. 82. 80 de segmente izolate în cistronii *A* și *B* la bacteriofagul T_4 prin metoda diviziunii

mutaţiilor genice cu deleţiile, pe măsura creşterii numărului mutaţiilor şi deleţiilor experimentate, a permis ca, treptat, să se pună în evidenţă pe hartă porţiuni tot mai mici. În ultimă instanţă, filamentul de ADN al fagului a putut fi împărţit în 80 de segmente corespunzătoare deleţiilor cercetate (fig. 82). Este clar că aceste segmente nu reflectă vreo diferenţiere genetică importantă a filamentului de ADN al fagului. Ele împart zona *r*II potrivit principiilor probabilităţii deleţiilor mutante. De aceea segmentele au dimensiuni întîmplătoare. Totuşi această metodă de suprimare a unor părţi mici din interiorul zonei *r*II şi de diferenţiere a 80 de segmente a avut o mare însemnătate deoarece lucrările ulterioare privind divizarea lor internă au dat rezultate pozitive în clarificarea structurilor genetice şi moleculare. Această diferenţiere în interiorul fiecărui segment se face pe calea studiului recombinărilor dintre mutaţiile genice ce au loc înăuntrul porţiunii respective.

Ce reprezintă deci, în ansamblu, zona din filamentul de ADN al bacteriofagului indicată ca *r*II? Am văzut că deleţiile întregii zone, deleţii de dimensiuni foarte mici (fig. 72, 81) şi, în sfîrşit, diferite mutaţii intragenice duc la alterarea uneia şi aceleiaşi funcţii, şi anume la modificarea formei şi dimensiunilor petelor sterile şi la incapacitatea de a leza celulele tulpinii *K*. Aici sînt posibile două soluţii ale problemei. Ori avem de-a face cu un sistem genetic unic, în care vătămarea oricărei părţi a acestuia duce la pierderea funcţiei, ori cu un sistem genetic complex din care fiecare parte programează diferite elemente ce se concentrează în afara filamentului de ADN, într-o reacţie citoplasmatică funcţională unică. Această problemă poate fi soluţionată pe calea *cis-trans*-analizei mutanţilor *.

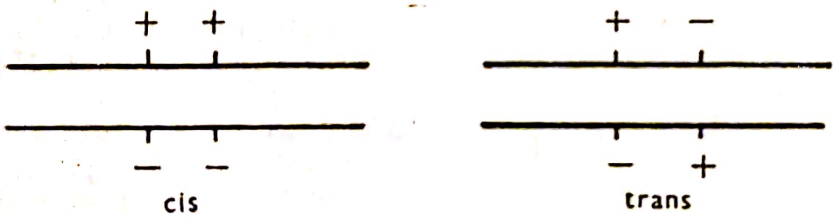


Fig. 83. Analiza alelismului (pseudoalelomorfismului) prin metoda *cis* şi *trans*-poziţiilor.

Metoda *cis** şi *trans*-analizei a fost elaborată în experienţele pe drosofila. În cazul *cis*-poziţiei locusurile mutante din sistemul unic se află în acelaşi cromosom, iar cromosomul omolog rămîne normal (fig. 83). În cazul *trans*-poziţiei sale, două mutaţii ale aceluiaşi sistem unic sînt localizate în cromosomii omologi (fig. 83). În felul acesta a fost analizat fenomenul pseudoalelomorfismului, cînd locusurile mutante disjunse prin *crossing-over* făceau totuşi parte din acelaşi sistem **. Aceasta rezultă cu claritate din faptul că mutaţiile *a* şi *b*, fiind complet recesive la *cis*-structuri, vădeau totuşi caractere mutante în *trans*-structură.

Cum trebuie deci folosită metoda *cis*- şi *trans*-analizei în genetica bacteriofagului, care reprezintă o formă haploidă, avînd un singur filament de ADN?

---

* *Cis* = de aceeaşi parte, *trans* = de partea opusă. Nomenclatură inspirată din chimia organică: izomerii *cis* au toate grupările funcţionale şi radicalii de aceeaşi parte a moleculei, izomerii *trans* au o parte a grupărilor funcţionale sau a radicalilor orientaţi spaţial de partea opusă. — *N.R.*

** În exemplul citat e vorba de două mutaţii *a* şi *b* în locusuri diferite ale aceluiaşi sistem genetic unic, în sensul că atît *a* cît şi *b*, dacă ar fi dominante, fiecare dintre ele ar determina fenotipi identici. Dacă *a* şi *b* sînt recesive în poziţia *cis*, ele nu se pot manifesta fenotipic decît în poziţie *trans*. În acest caz *a* şi *b* sînt omologi numai prin sistemul unic căruia aparţin şi de aceea se şi vorbeşte de pseudoalelomorfism (se realizează o pseudodublă alelă sau un pseudohomozigot). Dacă *a* şi *b* aparţin de sisteme genetice diferite, ele rămîn recesive atît în poziţie *cis*, cît şi în poziţie *trans* (şi în *trans*-poziţie se păstrează heterozigotismul). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

În acest caz diploidia a putut fi imitată prin infectarea celulei bacteriene cu două forme diferite de fagi. S-a constatat astfel că mutanții *r*II nu infectează celulele tulpinii *K*. Totuși, în cazul pătrunderii simultane de fagi și mutanți normali, mutanții pot, de asemenea, să crească și să se înmulțească în celulele tulpinii *K*. Avem în acest caz tabloul tipic al *cis*-poziției, deoarece în celula bacteriană există cromosomi normali * de fag și diferiți mutanți *r*II. Se pune întrebarea dacă diferitele segmente normale ale zonei *r*II situate în diverși cromosomi fagici mutanți pot asigura funcțiile unui fag normal? ** Este firesc că dacă ele aparțin unui sistem genetic unic, acest lucru nu se va întîmpla. Să presupunem că studiem mutațiile *L* și *N*. În cazul infectării celulei tulpinii *K* cu fagi care au ambele mutații (*L* și *N*), cît și cu fag normal, vom avea tabloul *cis*-structurii. După cum știm, în acest caz toți fagii se reproduc în celula bacteriană. Ce se petrece însă în *trans*-structuri, atunci cînd celulele se infectează cu fagi dintre care unii sînt purtători ai mutației *L*, iar alții ai mutației *N*? Este clar că dacă aceste mutații fac parte din sisteme genetice diferite, atunci fagii mutanți (din care fiecare mutant singur nu se poate înmulți în celulele tulpinii *K*) capătă această capacitate, deoarece cromosomii mutanți se completează reciproc din punct de vedere genetic. Dacă însă mutațiile *L* și *N* se referă la unul și același sistem genetic, atunci în *trans*-tip se manifestă tabloul unui pseudoalelism, iar amestecul acestor mutanți nu este în stare să se înmulțească pe celulele tulpinii *K*. În acest caz, în *trans*-homozigot are loc alterarea funcției normale a sistemului genetic al fagilor infectanți ***. Această analiză a arătat că toți mutanții studiați din zona *r*II se împart în două grupe: mutanții în interiorul cărora toate *trans*-structurile eficace fac parte dintr-un sistem funcțional unic, și ceilalți care fac parte din a doua unitate funcțională dispusă alături (fig. 82). A putut fi astfel descoperită existența a doi cistroni în zona *r*II: și cistronul *A* și cistronul *B* ****.

În figura 84 este înfățișat modul de analiză genetică a zonei *r*II. Sus este prezentat aspectul unui fragment al filamentului de ADN cu o serie de zone, printre care se află și *r*II (fig. 84 *a*). Prin selectarea unui șir de deleții, această zonă se împarte în cistronii *A* și *B*, iar cistronul *A* se împarte în șase segmente, fiecare din ei fiind egal ca mărime cu cistronul *B* (fig. 84 *b*). Ca exemplu pentru continuarea analizei ne vom referi la porțiunea A_5. Această porțiune, pentru a putea fi comparate trei deleții, se împarte în patru noi segmente mai mici: *A*5*a* *A*5*b*, *A*5*c*, *A*5*d*, în fig. 84 *c*. Vom lua porțiunea *A*5*c* și prin compararea a trei deleții

---

* Cromosomii normali suplinesc defectul genetic al cromosomilor mutanți incapabili să se înmulțească pe tulpina *K*. — *N.R.*

** În absența fagului normal. — *N.R.*

*** Cromosomul fagului normal și cromosomul fagului mutant *r*II se comportă în tulpina *K* de colibacil ca un heterozigot în care cromosomul normal este dominant. Cum e vorba de fagi haploizi, în celula bacteriană se realizează o pseudodiploidie, adică cromosomul normal și cromosomul mutant se comportă ca și cum ar fi o pereche omologă dintr-o garnitură diploidă.

Doi mutanți *trans* se comportă ca un pseudohomozigot cînd cele două mutații diferite sînt ale aceluiași sistem genetic și înmulțirea pe tulpina *K* este imposibilă. Cei doi mutanți *trans* se comportă ca un pseudoheterozigot cînd cele două mutații sînt din sisteme genetice diferite. În acest caz înmulțirea lor pe tulpina *K* este posibilă.

Din infestarea simultană a aceleiași celule microbiene cu doi fagi diferiți (doi mutanți sau un fag normal și un mutant) apare și un număr mic de fagi maturi cu genom parțial diploid. Acești diploizi parțiali la rîndul lor pot fi homozigoți sau heterozigoți pentru caracterul mutant. — *N.R.*

**** Prin cistron se înțelege unitatea genetică în care mutațiile formează în *trans*-poziție pseudoalelomorfism (pseudohomozigot) sau unitatea genetică în care orice mutație determină aceeași modificare fenotipică în sensul modificării aceleiași însușiri. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

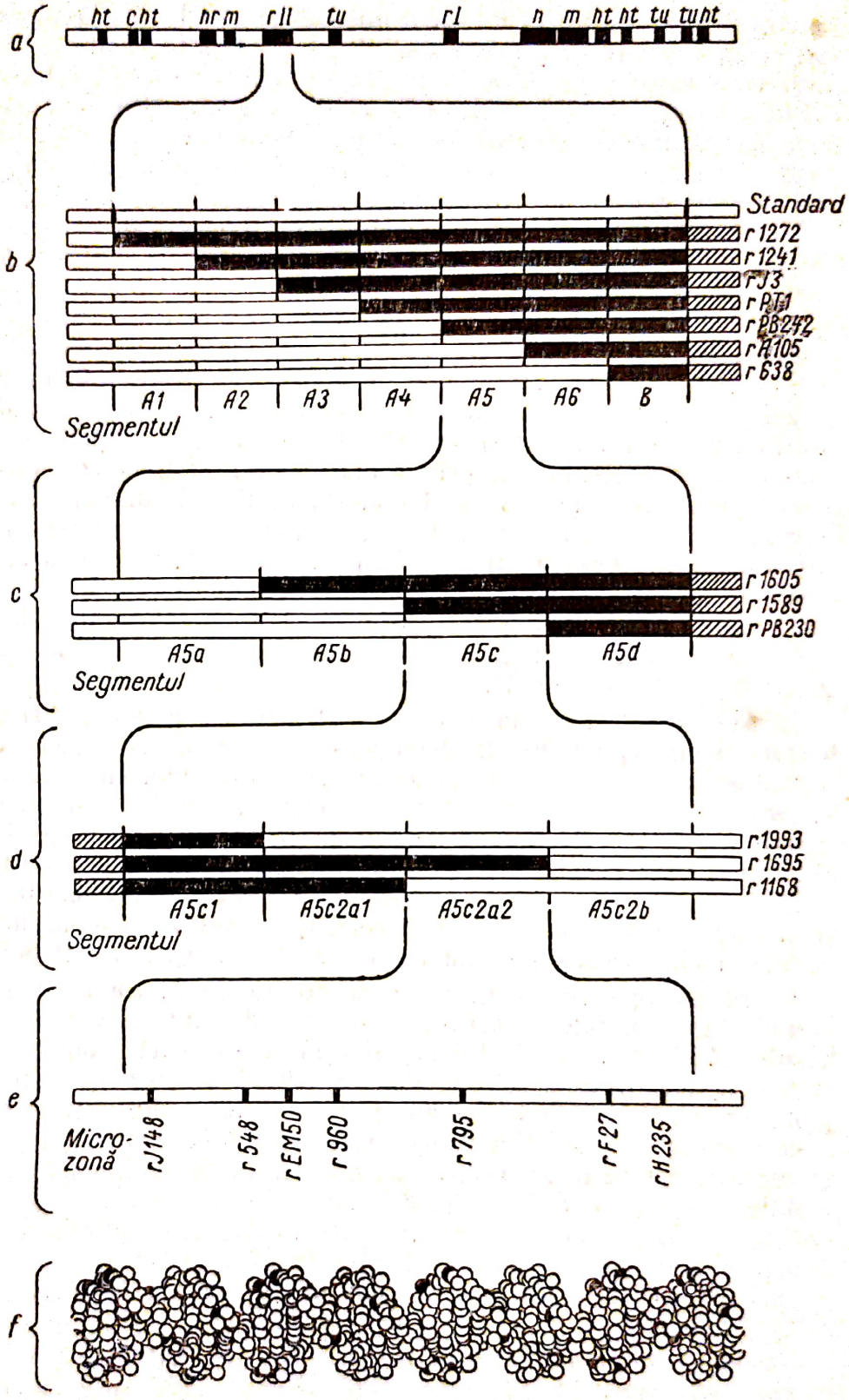


Fig. 84. Metodă de întocmire a hărții diferitelor porțiuni ale cistronilor din zona *rII* la bacteriofag, care permite apropierea hărții genetice de nivelul molecular al organizării eredității. Jos este înfățișat un fragment de moleculă de ADN.

și mai mici, o împărțim în patru microzone (*A5c1*, *A5c2a1*, *A5c2a2*, *A5c2b*, din fig. 84 *d*). Dimensiunile microzonei *A5c2a2* sînt atît de mici, încît este imposibil să se continue fracționarea ei. Harta acestei microzone se întocmește cu ajutorul unor recombinări între modificările intragenice (fig. 84 *e*). În acest caz avem de-a face cu modificări chimice ale diferitelor nucleotide. În fig. 84 *f* este înfățișat un fragment din molecula de ADN, care conține circa 40 de nucleotide și are aproximativ aceleași dimensiuni ca și microzona *A5c2a2*.

Astfel, ca urmare a analizei genetice în zona *r*II din filamentul de ADN al bacteriofagului s-a descoperit existența unei serii de unități genetice. Cea mai mică dintre ele este unitatea de recombinare denumită recon, care, după cum am arătat mai sus, este egală cu o pereche de nucleotide. Mutațiile sînt legate de modificarea chimică a uneia sau a cîtorva nucleotide, de deleții sau inserări de diferite dimensiuni. Unitatea de mutație a căpătat denumirea de muton.

Complexe întregi de unități genetice sînt legate într-o singură unitate funcțională: cistronul. În porțiunea *r*II sînt doi asemenea cistroni: *A* și *B*. Individualitatea mutațională, și prin urmare și cea chimică, a microzonelor din filamentul de ADN se manifestă clar prin modificările din diferiții mutoni ce apar ca mutații spontane în zona *r*II. În ambii cistroni au fost puse în evidență peste trei sute de asemenea regiuni mutante independente. Vedem cît de individualizată este capacitatea de mutație în diferitele microzone situate de-a lungul filamentului de ADN, în limitele cistronilor *A* și *B*. Atrage atenția marea frecvență a mutațiilor în una din microzonele cistronului *B* (porțiunea B_4b1) și a cistronului *A* (porțiunea *Abc*1).

Cercetările ulterioare cu privire la structura genetică a cistronilor *A* și *B* la bacteriofagul T_4 au dus la descoperirea, pe cale experimentală, a principiilor fundamentale ale codificării genetice. Vedem că informația genetică înregistrată în secvența nucleotidelor ce formează cistronii *A* și *B* nu privește principalele funcții vitale ale fagului. Mutațiile au ca urmare doar faptul că mutanții își pierd capacitatea de a infecta tulpina rezistentă a colibacilului, și anume tulpina *K*, menținîndu-și capacitatea de a se înmulți în celulele tulpinii *B*. Tocmai acest fapt a permis efectuarea de experiențe cu mii de asemenea mutanți pe deplin viabili și clarificarea structurii genetice amănunțite a cistronilor *A* și *B*.

Pentru descoperirea principiilor de codificare în zona *r*II a bacteriofagului a avut o însemnătate hotărîtoare obținerea de mutații specifice în limitele cistronilor *A* și *B*. În capitolul următor al acestei cărți vom examina amănunțit problema mutațiilor specifice. Pentru înlesnirea prezentei expuneri se impune doar lămurirea problemei modului de acțiune a derivaților acridinici asupra moleculei genetice de ADN a fagului. S-a arătat că acțiunea derivaților acridinici are un caracter cu totul specific. Ei nu determină modificări chimice ale bazelor azotate, așa cum o face, de pildă, acidul azotos. Acridinele determină în filamentul de ADN fie adăugirea unei baze (inserare), fie pierderea uneia din bazele existente în moleculă (deleție). În figura 86 este înfățișată schema mutațiilor ce apar sub acțiunea acridinelor dîndu-se ca exemplu dublarea și pierderea bazei azotate guanină.

Liniile mutante ale fagului, care au un nucleotid inserat, au fost studiate pe baza capacității lor de a da mutații inverse, adică spre tipul inițial, sălbatic, care poate infecta colibacilii atît din tulpina *B*, cît și din tulpina *K*. S-a constatat că asemenea mutații au într-adevăr loc. O parte din ele se produc prin pierderea bazei obținute anterior (inserate). În acest caz filamentul de ADN al bacteriofagului capătă structura normală inițială.

Scanned with OKEN Scanner

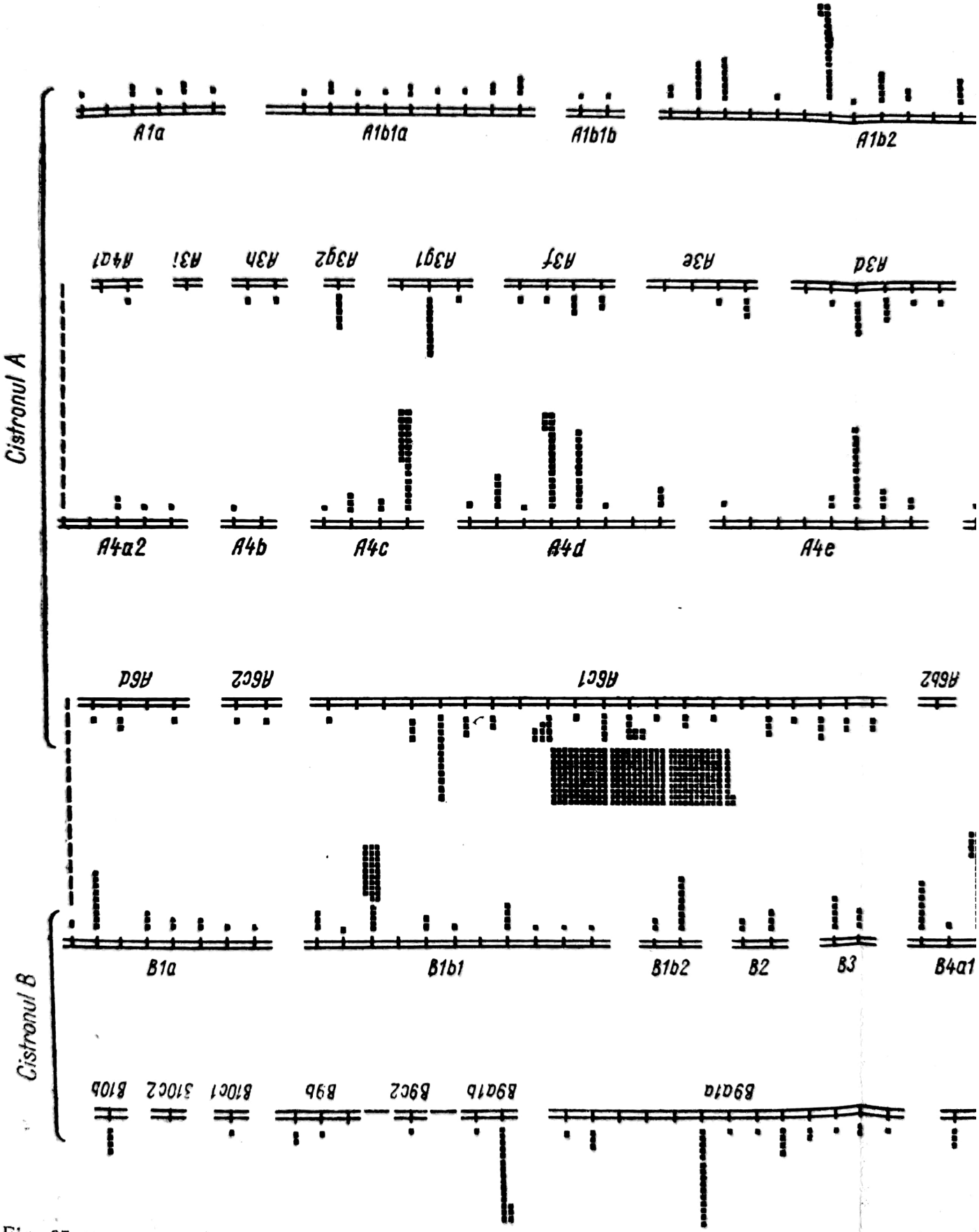
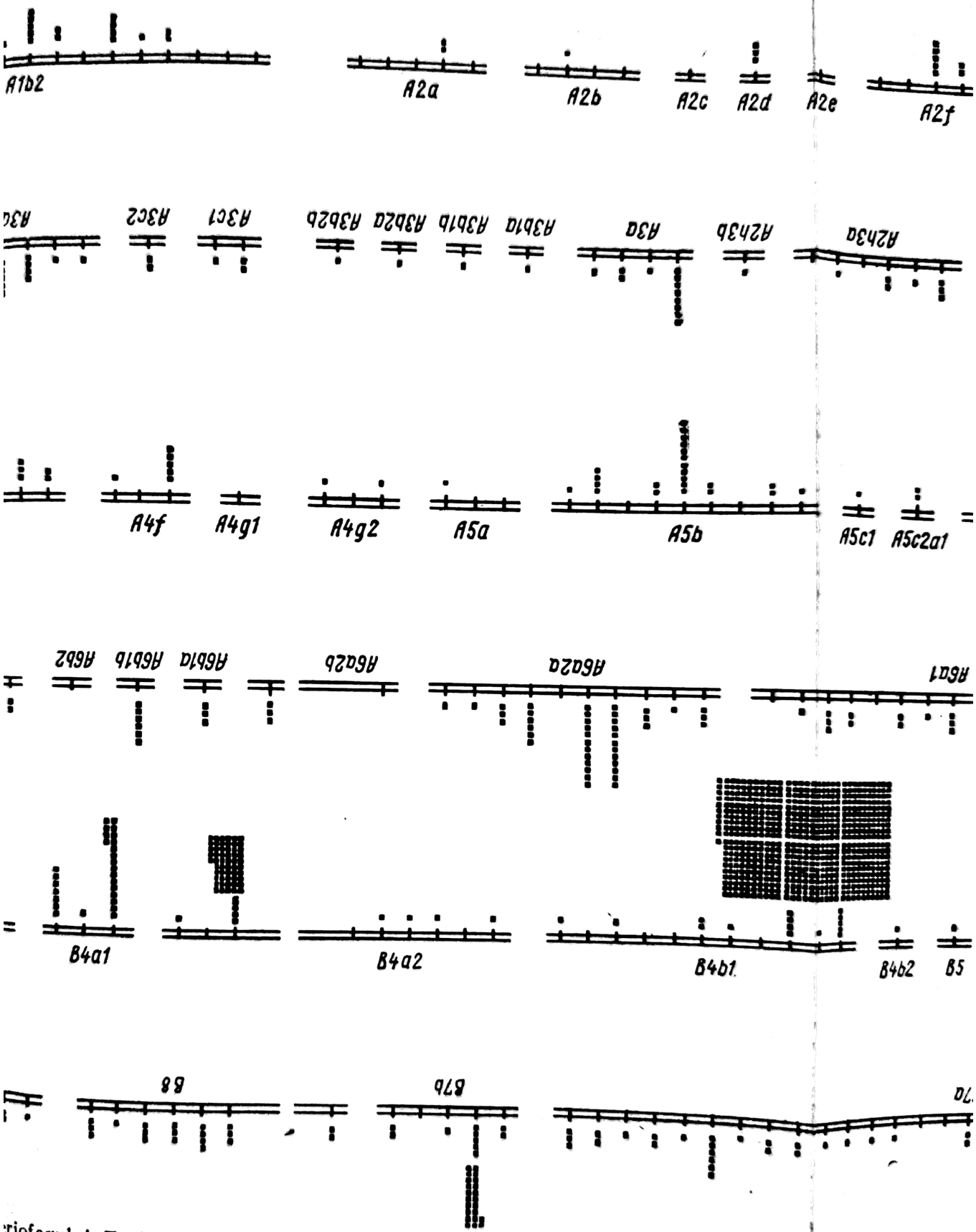
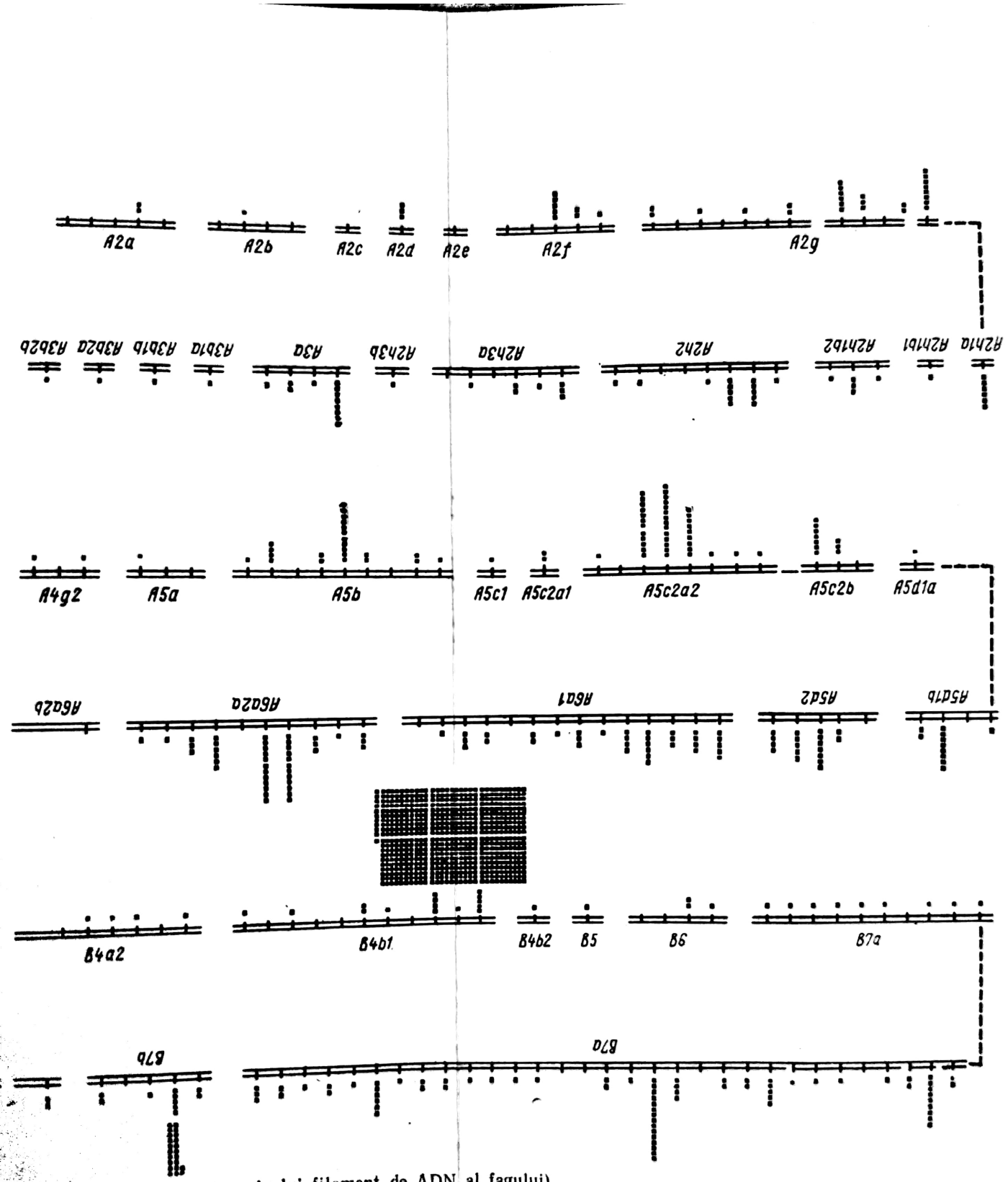


Fig. 85. Harta repartizării mutațiilor naturale în locusurile cistronilor *A* și *B* ai bacteriofagului *T*

Scanned with OKEN Scanner



riofagului T_4 (diferitele fragmente reprezintă părți ale unicului filament de ADN al fagului).



mente reprezintă părți ale unicului filament de ADN al fagului).

O altă categorie de mutaţii prezintă un interes excepţional pentru analiza principiilor de codificare a informaţiei genetice. Această categorie de mutaţii ce parte din clasa aşa-numiţilor represori, adică gene mutante care, luînd naştere independent de mutaţia respectivă, îi inhibă manifestarea.

Represorii care inhibă manifestarea fenotipică a mutaţiilor în regiunea *r*II au patru particularităţi foarte interesante. În primul rînd apar în acelaşi cistron din care face parte mutaţia pe care ei o inhibă. În al doilea rînd, represorul, pe harta genetică, a fost localizat relativ aproape de mutaţia pe care o inhibă. Astfel, pentru cistronul *B* depărtarea represorului de mutaţia pe care o inhibă nu depăşea 1/4 din lungimea întregului cistron. În al treilea rînd, represorul, sub raport genetic, s-a dovedit a fi o mutaţie opusă, prin caracterul său, naturii mutaţiei pe care o inhibă. Astfel, dacă mutaţia ce determină la bacteriofag pierderea capacităţii de creştere pe celulele liniei *K* reprezintă inserarea unui nucleotid, represia care îi redă capacitatea de creştere reprezintă suprimarea unui nucleotid. În al patrulea rînd, represorul ce apare în cistron la o oarecare depărtare de mutaţia pe care o inhibă poate fi izolat pe cale de recombinare. În acest caz, el devine o mutaţie obişnuită, adică determină pierderea capacităţii de creştere a bacteriofagului pe celulele tulpinii *K*.

Astfel, existenţa în filamentul de ADN a două mutaţii, dintre care una obişnuită, iar cealaltă represoare, determină o reciprocă blocare a manifestării fenotipice a ambelor mutaţii şi duce la apariţia unui tip sălbatic. Trebuie arătat că refacerea fenotipului sălbatic nu se produce complet, deoarece mutanţii dubli acţionează într-o mică măsură asupra caracterului proteinelor. Această acţiune este însă neînsemnată. În orice caz însuşirea de a creşte pe celulele tulpinii *K* se restabileşte în întregime la aceşti mutanţi dubli.

Pentru a explica aceste rezultate a fost emisă o ipoteză potrivit căreia codul genetic se calculează de la punctul de start într-o anumită direcţie. Aşa de pildă, dacă avem un filament de ADN sub forma unui lanţ de nucleotide (fig. 87), programarea moleculelor de ARN-i începe de la extrema stîngă a tripletei (punctul de start) şi se continuă cu tripletele următoare, de la stînga la dreapta. Schema acestei codificări într-un filament normal al bacteriofagului T_4, în zona *r*II,

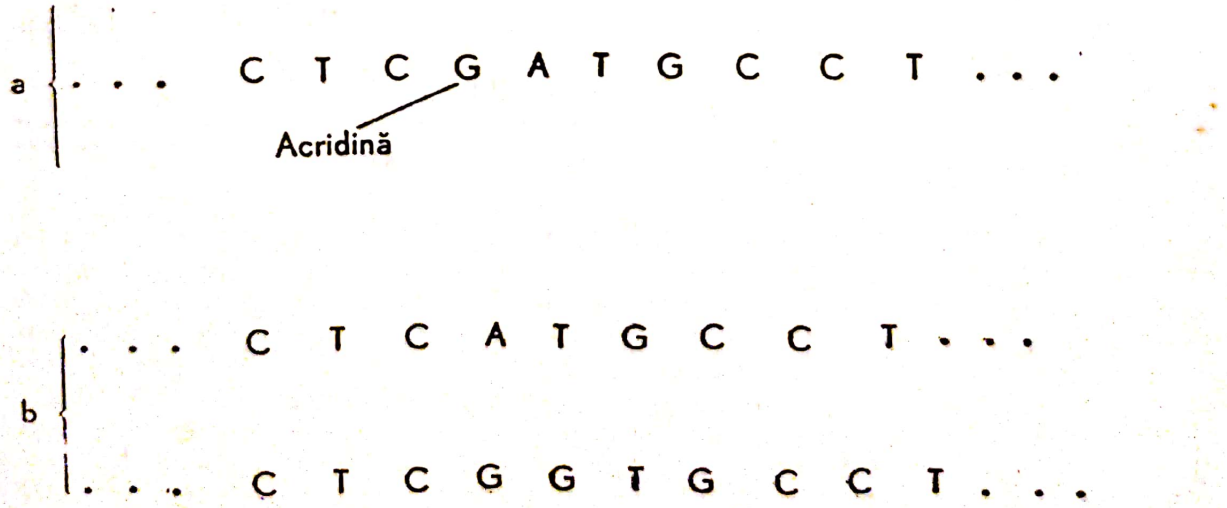


Fig. 86. Mutaţii în lanţul polinucleotidic de ADN sub acţiunea acridinelor:
a — fragment din lanţul polinucleotidic de ADN şi acţiunea acridinei asupra nucleotidului *G*; *b* — filamente mutante de ADN; sus deleţia unuia din baze (guanina); jos — inserarea unei baze suplimentare.

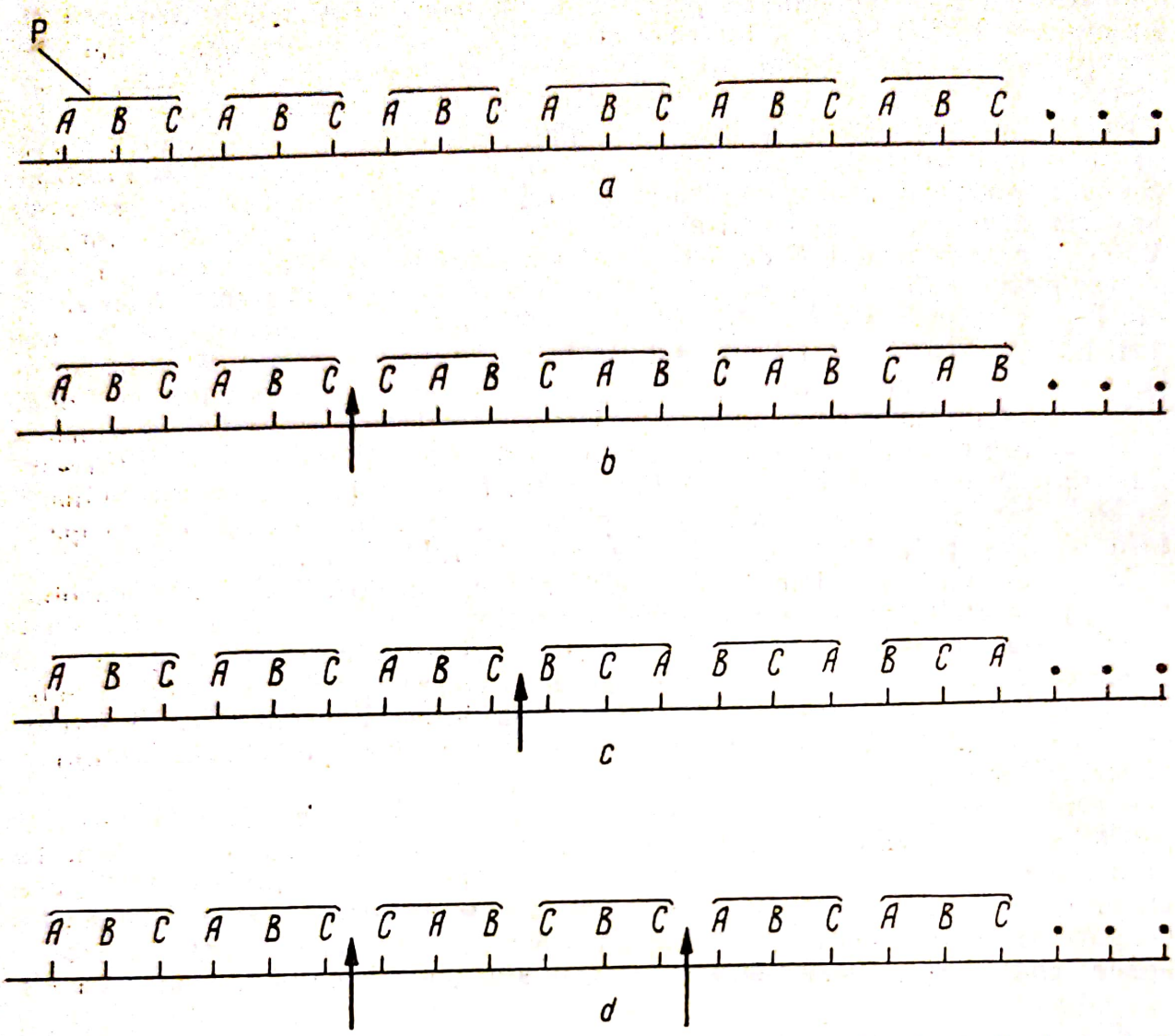


Fig. 87. Mutațiile la bacteriofag, ca urmare a pierderii unor nucleotide și genotipul cu două mutații de semn invers:

a — cod într-un filament normal de ADN înfățișat schematic sub forma tripletelor ABC; *b* — inserția nucleotidului *C*, apariția tripletelor deranjate după locul de inserare (tripletele *CAB*); *c* — deleția nucleotidului *A*, apariția de triplete deranjate după locul deleției (triplete *CAB*); *d* — o mutație dublă, tulburarea codificării normale numai în zona dintre inserție și deleție. Funcția cistronului este restabilită (mutație inversă). *P* — punctul de start la calcularea codului.

este înfățișată în fig. 87 *a*. Vedem că inserarea unui nucleotid (fig. 87 *b*) are ca urmare faptul că toate tripletele ce urmează locului de inserare sînt deranjate. Sinteza proteinei specifice este tulburată și apare un mutant incapabil să trăiască în celulele colibacilului tulpinii *K*. Același lucru are loc și în cazul pierderii unui nucleotid (fig. 87 *c*). În cazul combinării ambelor mutații în același filament de ADN, codificarea normală este tulburată numai între locusurile mutațiilor (fig. 87 *d*) și, ca urmare, apare o mutație inversă. Totuși aceste date faptice nu demonstrează cert caracterul triplu al codului, întrucît scheme de felul celei înfățișate în fig. 87 pot fi întocmite în mod satisfăcător și cu un alt număr de litere în cod.

Dovezi cu privire la caracterul de tripletă al codului s-au obținut în cadrul unor experiențe care au dovedit că în cazul unor mutații de același sens (adică

Scanned with OKEN Scanner

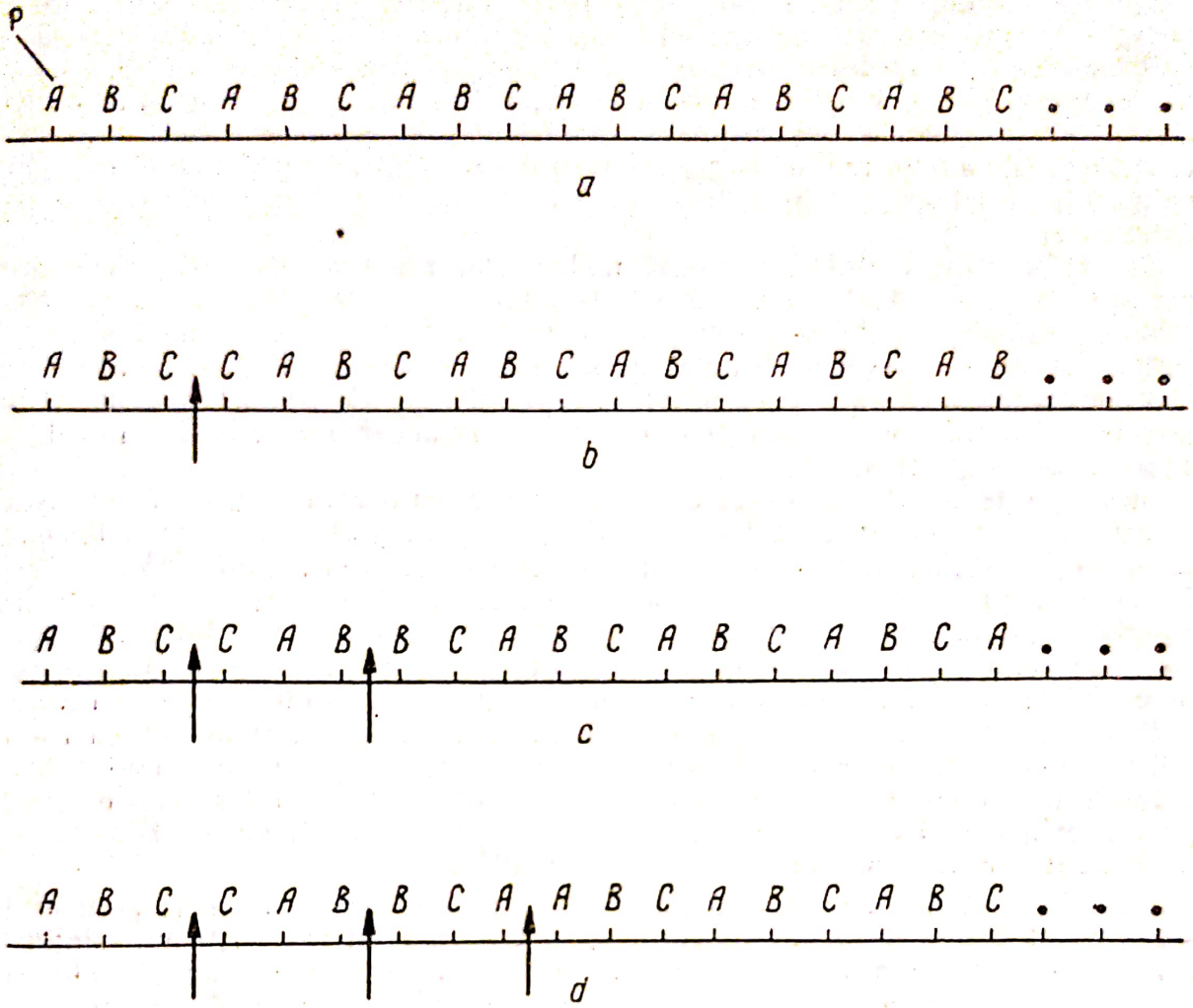


Fig. 88. Mutaţiile din molecula de ADN bacteriofagic apărute ca urmare a uneia sau a două intercalări de nucleotide şi mutaţia inversă prin trei inserări:

a — codul filamentului normal de ADN; *b* — inserarea unui nucleotid (C), apariţia unor triplete lipsite de sens după locul inserării; *c* — inserarea unui al doilea nucleotid (*B*), menţinerea perturbării codului în filamentul de ADN; *d* — inserarea unui al treilea nucleotid (*a*), care restabileşte codul normal dincolo de locul celei de-a treia inserări.

atunci cînd mutaţiile din filamentul de ADN sînt reprezentate numai prin inserări sau numai prin deleţii) se manifestă o altă legitate, de asemenea foarte netă. Ea constă în faptul că mutaţia simplă, ca şi mutaţia dublă, tulbură programarea proteinei normale. Aceşti mutanţi nu sînt în stare să trăiască în celulele colibacilului tulpinii *K*. Însă apariţia unei a treia mutaţii univoce restabileşte capacitatea filamentului ADN al fagului din zona *r*II de a sintetiza proteina normală (fig. 88).

Pentru caracterizarea zonei *r*II, în filamentul de ADN bacteriofagic T_4 a fost deosebit de important faptul că tulburarea sintezei proteinelor la inserări sau deleţii, adică apariţia unor triplete deranjate ale codului nu se extinde asupra cistronilor vecini. Mutaţiile din cistronul A nu modifică funcţiile cistronului B. Aceasta arată că în filamentul de ADN din zona *r*II există o porţiune care desparte ambii cistroni. Apariţia tripletelor deranjate se extinde începînd cu

locul inserției sau deleției și cuprinzînd toată lungimea cistronului. Ea nu trece însă de limitele sectorului de despărțire, iar porțiunea vecină rămîne neschimbată.

Principiile de codificare descrise de noi, care au fost stabilite pe calea unor experiențe genetice, au găsit o nouă dezvoltare în studierea biochimică a codificării. Folosind metode noi de analiză a biosintezelor prin introducerea în sistemul biologic a unor polinucleotide sintetizate artificial, s-a putut stabili natura chimică a tripletelor de nucleotide (cuvintelor codului) pentru toți cei 20 de aminoacizi.

Am arătat mai înainte că sinteza moleculelor proteinei din aminoacizi are loc pe ribosomi. Aminoacizii sînt activizați de către pH5-enzime și, formînd un complex cu ARN-ul solubil, sînt transportați spre ribosomi. Specificul sintezei proteinelor este determinat de secvența bazelor în ARN-i, ce apare ca o copie complementară a porțiunilor corespunzătoare ale filamentelor de ADN care fac parte din componenta genei ce poartă răspunderea programării în celulă a proteinei respective.

Încă înainte de efectuarea cercetărilor asupra polimerilor nucleici sintetici, a fost demonstrată posibilitatea de a dirija sinteza proteinelor prin adăugare de ARN-i corespunzător. În eprubetă, procesul de sinteză a proteinelor se desfășoară într-un sistem acelular, ce conține ribosomi, fermenți și substanțe de rezervă necesare. Direcția sintezei este în funcție de calitatea ARN-ului de informație adăugat. De exemplu, dacă acest sistem conține ribosomi extrași din celulele iepurelui și ARN-i din celulele unei oi, se sintetizează proteinele oii și invers.

Mai tîrziu s-a stabilit un fapt de o extremă importanță, și anume că rolul ARN-ului de informație într-un astfel de sistem acelular îl pot juca polinucleotidele sintetice cu conținut cunoscut de baze azotate. Această descoperire a fost pentru prima oară comunicată la al V-lea Congres Internațional de Biochimie, ce a avut loc la Moscova în luna august 1961.

S-a arătat că drept matriță pentru sinteza proteinelor poate servi polimerul sintetic sub formă de acid poliurdilic (poli U). În acest caz, sistemul sintetizează polifenilalanina, adică polipeptidul format din repetarea unuia și aceluiași aminoacid, și anume a fenilalaninei. Astfel, codul fenilalaninei este tripleta formată din uracil (UUU). În alte experiențe au fost folosiți nu numai polimeri uniformi puri, adică polimeri formați din nucleotide cu una și aceeași bază pentru care poate servi drept exemplu polimerul UUU, ci și copolimeri, adică polimeri formați din diferite nucleotide. Prin aceste experiențe s-a stabilit care anume triplete programează participarea fiecăruia din cei 20 de aminoacizi la sinteza proteinei.

Astfel, tripleta UU + A (uracil + uracil + adenină) programează participarea la sinteză a tirozinei. Tripleta AA + U (adenina + adenina + uracilul) determină participarea la sinteză a lizinei. La adăugarea copolimerului U + GG (uracil + guanină + guanină), la sinteză participă glicocolul; la adăugarea de CC + U (citozină + citozină + uracil) participă prolina etc. Au fost stabilite astfel tripletele (codul) pentru toți cei 20 de aminoacizi. Dat fiind că ordinea nucleotidelor în triplete nu este deocamdată cunoscută, devine explicabilă prezența tripletelor de aceeași compoziție pentru diferiți aminoacizi.

Din tabelul 5 se poate vedea că pentru unii aminoacizi, ca leucina, treonina, asparagina și glutamina, există mai multe grupe de codificare. Această particularitate a codului prin care cîteva triplete diferite programează participarea la sinteza proteinei a unuia și aceluiași aminoacid a căpătat denumirea de degenerare a codului. Tripletele (vezi tabelul 5) nu sînt decît o parte a codurilor reale de cuvinte existente în materialul genetic.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 5

CODUL CHIMIC CARE DETERMINĂ PARTICIPAREA LA SINTEZĂ A AMINOACIZILOR. DIFERITELE CUVINTE SÎNT ALCĂTUITE DIN TRIPLETE ALE NUCLEOTIDELOR DIN ARN-i. ACEST COD A FOST STABILIT PE CALEA FOLOSIRII POLINUCLEOTIDELOR SINTETICE

Polinucleotizi sintetici adăugaţi la sistemul sintetizant	Aminoacizi polimerizaţi	Polinucleotizi sintetici adăugaţi la sistemul sintetizant	Aminoacizi polimerizaţi
UUU- (uracil-uracil-uracil)	fenilalanina	UUC, UUG, UUA (uracil-uracil-citozină; uracil-uracil-guanină; uracil-uracil-adenină)	leucina
UCG (uracil-citozină-guanină)	alanina	UAA (uracil-adenină-adenină)	lizina
UCG (idem)	arginina	UAG (uracil-adenină-guanină	metionina
UAG (uracil-adenină-guanină)	acidul aspartic		
UAA, UAC (uracil-adenină adenină; uracil-adenină-citozină)	asparagina	UCC, CCC (uracil-citozină-citozină; citozină--citozină-citozină)	prolina
UUG (uracil-uracil-guanină)	cisteina	UUC (uracil-uracil-citozină)	serina
UAG (uracil-adenină-guanină)	acidul glutamic	UAC, UCC (uracil-adenină-citozină; uracil-citozină-citozină)	treonina
UCG (uracil-citozină-guanină)	glutamina		
UGG (uracil-guanină-guanină)	glicocolul	UGG (uracil-guanină-guanină)	triptofan
UAC (uracil-adenină-citozină)	histidina	UUA (uracil-uracil-adenină)	tirozina
UUA (uracil-uracil-adenină)	izoleucina	UUG (uracil-uracil-guanină)	valina

Faptul că toate tripletele din tabel conţin uracil (U) se datoreşte prezenţei unui număr, deocamdată limitat, de polimeri sintetici folosiţi în experienţă. Prezenţa obligatorie a uracilului în triplete nu trebuie să caracterizeze grupele de codificare. S-a stabilit astfel numai o parte a tripletelor ce programează participarea aminoacizilor la sinteza proteinei. Trebuie să amintim, de asemenea, că la folosirea polimerilor sintetici a fost stabilită doar compoziţia tripletelor.

Un interes imens îl prezintă sarcina descifrării, în lumina datelor obţinute, a codurilor genetice reale la diferite organisme, ceea ce implică greutăţi şi mai mari. Rezolvarea acestei probleme necesită cunoaşterea aşezării bazelor în interiorul genelor, a principiilor de codificare şi a caracteristicilor chimice a grupelor de codificare ale diferitelor sisteme de gene.

Scanned with OKEN Scanner

În rezolvarea acestei grandioase probleme un interes deosebit îl prezintă cercetările pentru lămurirea grupelor de codificare înscrise în filamentul de ARN al virusului mozaicului tutunului. În prezent se poate considera că structura moleculară a virusului mozaicului tutunului a fost în esență lămurită. S-a stabilit că molecula de ARN a acestui virus conține 5 500 de nucleotide. Membrana proteinică a virusului este alcătuită din 2 200 de unități proteinice, fiecare din ele având o masă moleculară de 17 500 și fiind alcătuită din 158 de aminoacizi. Secvența aminoacizilor în proteinele virusului este pe deplin lămurită. Prin acțiunea acidului azotos asupra ARN-ului extras din virus apar modificări în compoziția nucleotidelor. Filamentul mutant de ARN apare la modificarea uneia dintre cele 6 500 de baze azotate existente în moleculă. Aceste molecule mutante de ARN (în cazul cînd infectează plantele) se înmulțesc și dau forme mutante de virus, cu filament mutant de ARN și cu o nouă proteină a cărei compoziție și secvență a aminoacizilor este modificată.

Acidul azotos determină trecerea citozinei în uracil (C → U), a adeninei în hipoxantină (A → Hip) și a guaninei în xantină (G → Xa). Însă la replicarea filamentului de ARN modificat, în celulele frunzelor plantei, xantina și hipoxantina nu se reproduc. În noile molecule apar în locul lor nucleotide atrase din citoplasmă și care conțin guanină. Ca urmare, acțiunea acidului azotos duce la înlocuirea adeninei cu guanină (A → G) și a citozinei cu uracil (C → U).

Este explicabil ca tripletele de codificare ce poartă răspunderea pentru programarea proteinelor la virusul mozaicului tutunului să se modifice, într-un anumit sens, sub acțiunea acidului azotos. Aceasta va fi urmată și de modificări în sinteza proteinelor.

Analiza sintezei proteinelor mutanților la virusul mozaicului tutunului a permis să fie stabilite tripletele de codificare. S-a descoperit o remarcabilă coincidență a datelor obținute în urma folosirii polimerilor sintetici și a analizei mutanților virusului mozaicului tutunului determinați de acțiunea acidului azotos. Astfel, s-a demonstrat că includerea treoninei este codificată de tripletul UAC (uracil, adenină, citozină). Descoperirea naturii grupelor de cod din filamentul genetic al acizilor nucleici ai virusului mozaicului tutunului prezintă un mare interes. Faptul că ele coincid cu datele privind polimerii sintetici are o mare însemnătate, indicînd caracterul universal al grupelor de cod. Principala sarcină a cercetărilor ce se vor efectua în viitor este descoperirea alcătuirii codului la o serie de grupe de organisme.

Uimitoarele realizări ale geneticii biochimice, care a stabilit natura structurilor chimice cu ajutorul cărora informația genetică este înregistrată în moleculele acizilor nucleici, reprezintă unul din evenimentele centrale ale științei din zilele noastre. Așa cum descoperirea dezintegrării uraniului în 1939 a dus la stăpînirea energiei atomice, la fel și descifrarea codului genetic deschide căi noi pentru elaborarea metodelor de dirijare a eredității și a vieții.

Problema genei, adică a discontinuității în înscrierea informației genetice, se situează în centrul cercetărilor științelor naturale contemporane, ale căror eforturi urmăresc să dezlege enigma vieții. Stăpînirea metodelor de transformare dirijată a eredității va fi posibilă numai după ce descifrarea codului informației genetice și modificarea structurilor chimice care asigură înregistrarea și transmiterea de-a lungul generațiilor a informației genetice se vor realiza pe structuri vii. Dirijarea eredității organismelor impune rezolvarea problemei la nivel molecular, găsindu-și întruchiparea în organizarea genică a materialului genetic. În cele ce urmează, vom arăta că aceasta nu este suficient. Trebuie să se țină

Scanned with OKEN Scanner

seama de sistemele de organizare a eredității și de sistemele organismului. Toate acestea complică serios problema dirijării vieții. Însă descoperirea naturii bazelor moleculare ale eredității reprezintă un succes atît de uimitor și dătător de speranțe, încît întreaga problemă a dirijării eredității și vieții s-a apropiat nespus de mult de realizarea sa.

Descoperirea naturii moleculare a materialului genetic legat de structurile moleculare ale acizilor nucleici deschide perspective excepționale pentru noi analize experimentale ale bazelor eredității și vieții.

În cercetările ce dezvăluie structura moleculară a materialului genetic, probleme esențiale, ca acțiunea radiațiilor nucleare și a altor radiații asupra eredității, dirijarea procesului mutațiilor și alte procese capătă fundamentul necesar pentru o nouă adîncire. Aceste cercetări au o însemnătate primordială pentru ansamblul științelor naturale contemporane. Ultimele două capitole ale acestei cărți vor fi consacrate tocmai acestor probleme centrale, ce stau în fața științei din zilele noastre. Lucrările geneticii contemporane în această direcție formează baza dezvoltării viitoare a științelor naturale, care în problemele geneticii moleculare au unit eforturile biologiei, chimiei, fizicii și matematicii.

BIBLIOGRAFIE

1 G. W. Beadle, *The Role of the Nucleus in Heredity*. A symp. of the chem. basis of heredity, 1957.
2 S. Benzer, *The elementary units of heredity*, A symp. of the chem. basis of heredity. The Johns Hopkins press, 1957.
3 N. P. Dubinin, *Step-allelomorphism and the theory of the gene achaete-scute*, în „J. Genetics", XXVI, No. I, 37—58, 1932.
4 N. P. Dubinin, *Step-allelomorphism in Drosophila melanogaster*, în „J. Genetics", XXVII, No. 3, 443—464, 1933.
5 N. P. Dubinin, *Step-allelomorphism in Drosophila melanogaster*, The allelomorphs achaete ^{2} — scute ^{10}, achaete^{I} — scute^{II}, and achaete ^{3} — scute ^{13}, în „J. Genetics", v. XXV, No. 2, 163—181, 1932.
6 N. P. Dubinin, *Teoria ghena, istoria i sovremennîe problemî*. Biuleten Moscovscovo obșcestva ispitatelei prirodî, Tom 69, No. 1, 5—19, 1964.
7 G. A. Dvorchin, *Codirovanie nasledstvennoi informații v nucleinovîh chislotah*, în „Jurnal obșcei biol.", *23*, 3, 216, 1962.
8 J. Lederberg, *A view of genetics* în „Science", 131, No. 3396, 269—276, 1960.
9 E. S. Lennox, *Genetic fine-structure analysis*, în „Reviews of modern physics", v. 31, n.I, 1959.

9. Legile transmiterii proprietăților ereditare de-a lungul generațiilor de organisme diploide

Legile transmiterii proprietăților ereditare de-a lungul generațiilor de organisme au fost descoperite cu mult înaintea cercetărilor care au permis să se smulgă vălul care ascundea substratul molecular al eredității. Aceasta se referă și la legile apariției mutațiilor. În cadrul unor experiențe ample și precise efectuate pe plante, animale și microorganisme s-au studiat atît apariția unor noi mutații, cît și legile de transmitere a mutațiilor de-a lungul generațiilor de organisme. Studiul microscopic al structurii cromosomilor a scos la iveală uimi-

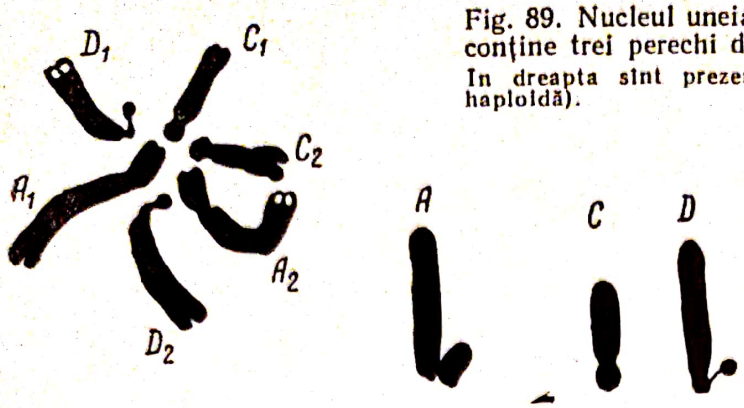


Fig. 89. Nucleul uneia din varietăţiile speciei *Crepis*, care conţine trei perechi de cromosomi (stare de diploidie). În dreapta sînt prezenţi trei cromosomi diferiţi (garnitura haploidă).

torul tablou al celor mai fine legături dintre moştenirea caracterelor, apariţia mutaţiilor şi caracteristicile microscopice ale cromosomilor întregi sau ale unor părţi ale acestora. Folosirea microscopiei în ultraviolet a permis să se extindă limitele cercetării microscopice în structura ereditătii *. Legătura dintre diferitele microsectoare ale cromosomilor şi dezvoltarea unor proprietăţi ale celulei sau ale organismului în întregime a servit la fundamentarea citologică a concepţiei despre diviziunea materialului genetic în unităţi elementare care au căpătat denumirea de gene. Mutaţiile unor gene duc la apariţia variatelor lor stări (în genul izomerilor), denumite alele.

Particularităţile ereditare ale diferitelor organisme sînt legate de particularităţile organizării biologice ale nucleelor celulare.

Pe baza exemplului bacteriilor şi virusurilor am constatat că moleculele ereditare sînt concentrate într-o structură genetică unică. Astfel, în celulele colibacilului se află un cromosom, iar în capsulele fagilor — un filament de ADN. Aceste organisme au căpătat denumirea de haploide. Analizînd însă fenomenele de recombinare şi transducţie la bacterii, am constatat apariţia în celulele lor a unei diploidii parţiale şi temporare.

La descrierea fenomenelor de conjugare la bacterii am văzut că între celulele acestora se formează o punte citoplasmatică, iar cromosomul unei celule trece prin această punte într-o altă celulă bacteriană. Intervine o ruptură şi o porţiune din cromosom ajunge în această celulă care are un cromosom propriu întreg. Astfel ia naştere o diploidie parţială în celula bacteriană.

Sub raportul evoluţiei, diploidia s-a dovedit a fi extrem de aptă de modificări. Să luăm fenomenul mutaţiilor. Orice mutaţie la organismele haploide se manifestă dintr-o dată, căci ele au o singură alelă, în cromosomul unic sau într-o garnitură haploidă unică de cromosomi. De aceea, în cadrul formelor haploide nu se poate acumula nici un fel de rezervă de variabilitate ereditară. După apariţia lor, mutaţiile sînt neîntîrziat supuse acţiunii selecţiei. Cele utile sînt însuşite, iar cele dăunătoare sînt eliminate.

La organismele diploide tabloul se schimbă: cromosomii formează perechi, în care un cromosom provine de la mamă, iar celălalt de la tată. Omul are 23 de perechi de cromosomi, maimuţa *Maccacus rhesus* — 21 de perechi, drosofila — 4 perechi, orzul — 7 perechi ş.a.m.d. În cazurile în care fiecare pereche de cromosomi are o individualitate morfologică riguroasă, prezenţa cromosomilor homologi se stabileşte precis la microscop. În figura 89 se arată nucleul unei plante aparţinînd genului *Crepis*, care conţine trei perechi de cromosomi ce se

* Vezi nota de la pag. 20.

Scanned with OKEN Scanner

deosebesc bine unii de alţii. Dat fiind că fiecare pereche este alcătuită din doi cromosomi homologi, rezultă că şi genele cuprinse în aceşti cromosomi sînt în dublu exemplar. Este de la sine înţeles că mutaţia apărută într-unul din cromosomi se găseşte, în condiţiile celulei diploide, într-o situaţie genetică nouă. În organismul haploid fiecare genă este singura sursă a unei informaţii unice (informaţie ce programează sinteza unei anumite enzime sau baze purinice etc.). În celula diploidă există două gene identice (alele) care furnizează în celulă o cantitate de informaţie dublă, ce se înlocuieşte reciproc (fig. 90 *c*). Aceasta creează un sistem cu mult mai stabil împotriva influenţei atît a factorilor externi, cît şi a celor interni, care ar putea tulbura dezvoltarea şi activitatea celulei. Această stabilitate a sistemului celular reiese limpede din exemplul manifestării unei mutaţii nou apărute. În cazul mutaţiei unei gene normale *A* în alela *a*, în celula haploidă tulburarea informaţiei determinată de acţiunea noii alele mutante se manifestă imediat (fig. 90 *b*).

Evoluţia bacteriilor se bazează pe selecţia rezultată din utilizarea directă a mutaţiilor noi. Speciile de bacterii nu necesită rezerve de variabilitate, ele fiind reprezentate de un număr incalculabil de indivizi. La aceste specii numărul mutaţiilor ce apar în fiecare generaţie este întru totul suficient pentru ca prin selecţie să se adapteze la orice schimbări ale mediului.

Astfel se prezintă situaţia la organismele pluricelulare — vegetale sau animale. În acest caz, numărul indivizilor unei anumite specii este relativ mic. Asemenea specii trebuie să dispună de rezerve de variabilitate. Posibilităţile apariţiei unor asemenea rezerve de variabilitate se creează prin diploidie. În celula diploidă, în cazul mutaţiei unei gene (*A*) în alela sa recesivă (*a*), paralel cu această alelă mutantă recesivă, în celălalt cromozom omolog există o alelă normală (fig. 90). În cazul în care la asemenea indivizi heterozigoţi există două alele diferite înăuntrul unei celule (fig. 90 *d*), informaţia alelei *A* domină de obicei. În aceste condiţii prezenţa mutaţiei *a* este latentă. La aceşti indivizi heterozigoţi, care dispun de două alele diferite (*A* şi *a*), alela *A* este dominantă, iar alela *a* — recesivă, adică subordonată, latentă. Astfel, organismele diploide (omul, porumbul, şoarecele, drosofila, ş.a.) pot avea în stare heterozigotă alele recesive. Vom vedea mai jos că la încrucişarea heterozigoţilor aceste alele recesive se segregă în formă pură (homozigotă) dînd indivizi cu caractere modificate, care corespund informaţiei transmise de alela recesivă. Astfel, acumularea de mutaţii recesive în stare heterozigotă poate constitui baza pentru o rezervă de variabilitate ereditară la speciile diploide.

Deşi crearea unei stări de maleabilitate genetică la speciile diploide a constituit principala lor cucerire evolutivă, totuşi cauza pentru care toate formele superioare de organisme au evoluat istoriceşte pe baza diploidiei a constituit-o dezvoltarea procesului sexual, fără de care, de fapt, nici n-ar fi fost posibilă folosirea proprietăţilor heterozigotice.

Semnificaţia evolutivă a procesului sexual este extrem de mare. În cazul înmulţirii asexuate, specia este fragmentată într-o mulţime de linii, fără vreo legătură între ele. În cazul procesului sexual ereditatea speciei se uneşte într-un tot întreg, ceea ce deschide în faţa evoluţiei oricărui organism imense posibilităţi. Procesul sexual se bazează pe fuziunea a două celule haploide (masculină şi feminină), iar produsul acestei fuziuni îl constituie celula diploidă. Astfel, pentru organismele care se înmulţesc pe cale sexuată este caracteristică atît faza diploidă ce apare ca urmare a fuziunii celor două celule sexuale haploide (gameţi), cît şi faza haploidă, ce apare ca urmare a unor transformări specifice care survin în

Scanned with OKEN Scanner

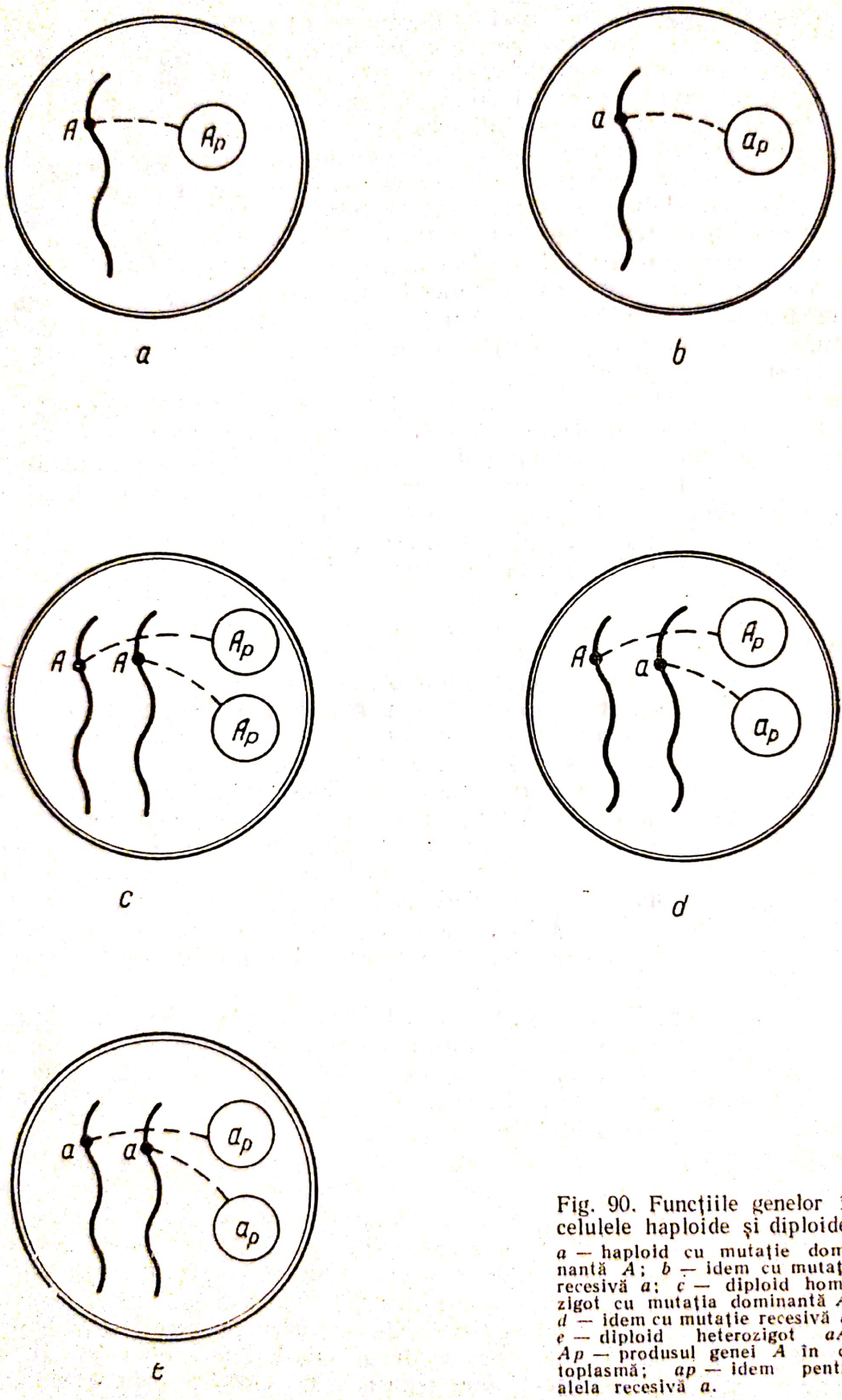


Fig. 90. Funcțiile genelor în celulele haploide și diploide: *a* — haploid cu mutație dominantă *A*; *b* — idem cu mutație recesivă *a*; *c* — diploid homozigot cu mutația dominantă *A*; *d* — idem cu mutație recesivă *a*; *e* — diploid heterozigot *aA*; *Ap* — produsul genei *A* în citoplasmă; *ap* — idem pentru alela recesivă *a*.

Scanned with OKEN Scanner

celulele germinative diploide. La baza acestor transformări se află diviziunea reducțională (meioza), prin care celulele germinative diploide se transformă în gameți haploizi. Fecundarea, procesul prin care doi gameți fuzionează într-o celulă unică — zigotul — duce la restabilirea structurii diploide a nucleului.

Meioza este un proces complex care nu numai că pregătește reducerea cromosomilor (transformarea nucleului din diploid în haploid), dar realizează și importantul fenomen al conjugării și schimbului de fragmente între cromosomii omologi (încrucișarea reciprocă a cromosomilor). Meioza se realizează în decursul a două diviziuni celulare de tip deosebit, care se succed rapid una după alta. Fenomene dintre cele mai complexe intervin în profaza primei diviziuni a meiozei, care se subîmparte în cinci stadii. Primul stadiu, cel mai timpuriu, este cel care a căpătat denumirea de leptonema (fig. 91 *a*). În această perioadă cromosomii sînt deosebit de lungi, iar structura diferitelor lor părți este bine conturată. Al doilea stadiu al profazei primei diviziuni a meiozei poartă denumirea de zigonema (fig. 91 *b*) *. Acest stadiu este caracterizat prin conjugarea în perechi a cromosomilor omologi, care se face cu o mare exactitate. În perechea de cromosomi sînt omologi nu numai cromosomii, ci și diferitele lor părți, pînă la locusuri și gene. Această conjugare a elementelor omologe în perechea de cromosomi se realizează prin acțiunea unor forțe de atracție omologe, a căror natură fizico-chimică nu este încă lămurită. Al treilea stadiu în profaza primei diviziuni a meiozei este cel al pahinemei (fig. 91 *c*). În această perioadă cromosomii se mențin în starea la care au ajuns grație intervenției active a forțelor de atracție omologe din perioada zigonemei; ei se îngroașă în mod vizibil (fig. 91 *c*). Aceste perechi de cromosomi scurtate și strîns conjugate poartă denumirea de bivalenți. Fiecare cromosom din componența bivalentului constă din două cromatide. În acest stadiu de patru cromatide are loc unul din principalele fenomene ale meiozei, legat de schimbul reciproc de porțiuni cromosomiale între omologi (*crossing-over*). Acest fenomen de încrucișare reciprocă poate fi văzut la microscop în stadiul al patrulea al profazei primei diviziuni meiotice, denumit diplonema (fig. 91 *d*). În această perioadă bivalenții încep să se depărteze unul de altul sub efectul forțelor de respingere a omologilor, apăruți între timp, și la locul încrucișării se formează imaginea unei cruci (chiasmă).

Deoarece cromosomii sînt profund diferențiați sub raportul lungimii lor, rezultă că schimbul de segmente nu este cîtuși de puțin indiferent prin consecințele lui genetice. Dat fiind că structura diploidă apare după fuziunea celulelor sexuale feminină și masculină, rezultă că în fiecare pereche de cromosomi un omolog provine de la mamă, iar celălalt de la tată. Astfel, cromosomii care s-au încrucișat reciproc conțin o parte de material genetic matern și o parte de material genetic patern. Aceasta arată că încrucișarea duce la o profundă transformare a structurii cromosomilor. Ea îndeplinește funcția importantă de creare a unui variat material genetic în generația rezultată din încrucișare, alcătuind astfel un mecanism esențial al apariției unei bogate variații genetice la descendenții care rezultă din înmulțirea sexuată.

Ultimul stadiu din profaza primei diviziuni a meiozei este diakineza; ea se caracterizează printr-o și mai mare disjuncție a omologilor în interiorul biva-

---

* Leptonema = fir subțire (*leptos* = subțire, *nema* = fir)
Zigonema = fir unit (*zigoo* = a uni)
Pahinema = fir gros (*pachis* = gros)
Diplonema = fir dublu (*diploos* = dublu)
Diakineză = deplasare (*dia* = prin, *kinesis* = mișcare) — *N.R.*

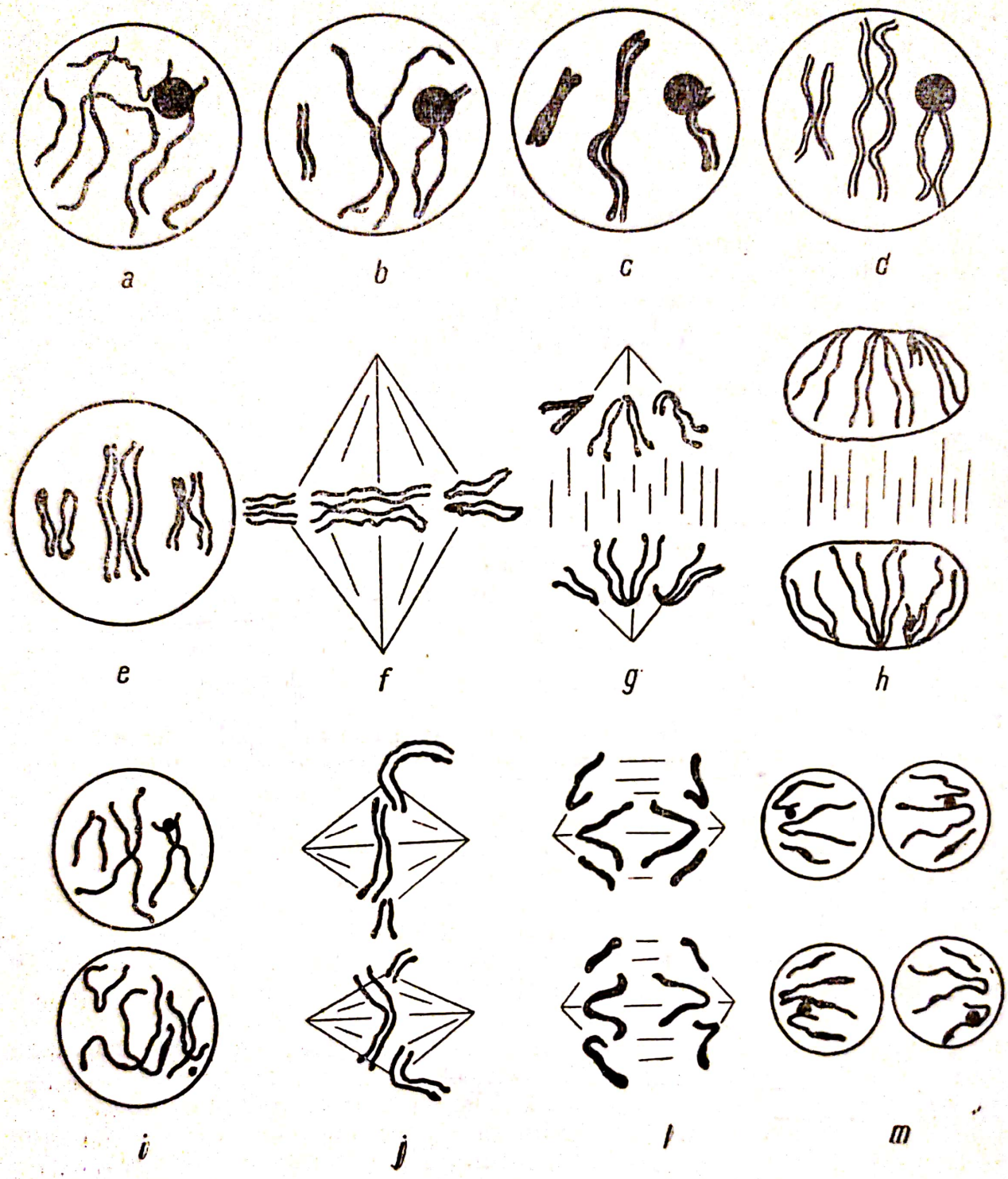


Fig. 91. Diviziunea meiotică de maturare a celulelor sexuale:
a — stadiul leptonemic: cromosomii sînt reprezentaţi printr-un număr diploid (trei perechi de cromosomi), însă fiecare cromosom este format din două fire (cromatide); *b* — stadiul zigonemic începe prin conjugarea cromosomilor omologi; *c* — stadiul pahinemic, în care omologii sînt conjugaţi formînd trei blocuri, fiecare din ele constînd din patru cromatide; în acest stadiu are loc încrucişarea reciprocă a cromosomilor; *d* — stadiul diplonemic, cînd omologii încep să se îndepărteze fiind legaţi prin locurile de încrucişare (chiasme); *e* — stadiul diakinezic, în care are loc scurtarea cromosomilor şi îndepărtarea în continuare a omologilor; *f* — metafaza, în care perechile se aşază în placă ecuatorială; *g* — anafaza, în care are loc separarea omologilor spre poli diferiţi; *h* — telofaza; *i* — profaza celei de-a doua diviziuni a meiozei; *j* — a doua diviziune a meiozei, metafaza; *l* — anafaza celei de-a doua diviziuni: reducerea numărului de cromosomi transformarea nucleului diploid în nucleul haploid; *m* — telofaza, fiecare nucleu conţine o garnitură haploidă de cromosomi (trei cromosomi).

Scanned with OKEN Scanner

lenţilor, care totodată sînt şi mai scurţi (fig. 91 *d*). Din clipa în care bivalenţii se orientează în planul ecuatorial al diviziunii, membrana nucleară dispare şi se dezvoltă fusul de diviziune, ceea ce caracterizează începutul metafazei primei diviziuni a meiozei (fig. 91 *f*). Mişcarea cromosomilor spre poli diferiţi caracterizează stadiul anafazei (fig. 91 *h*). Contrar mitozei, în care în celulele-fiice are loc separarea cromatidelor, în meioză are loc separarea unor cromosomi întregi. În acest caz centromerii nu se divid şi, ca urmare, din fiecare pereche de cromosomi conjugaţi (bivalenţi) un omolog compus din două cromatide se îndreaptă spre un pol, iar al doilea, care are tot două cromatide, se îndreaptă spre celălalt pol. Disjuncţia de cromosomi întregi din fiecare bivalent are ca urmare faptul că în fiecare nucleu apare în stadiul de anafază al primei diviziuni a meiozei, în locul unei garnituri diploide de cromosomi, o garnitură haploidă. Astfel se realizează reducerea numărului de cromosomi, în urma căreia toţi cromosomii devin unici, deoarece în anafaza primei diviziuni a meiozei perechile se scindează în omologii din care sînt alcătuite. Comportarea cromosomilor în meioză este înfăţişată mai amănunţit în fig. 92. Disjuncţia omologilor are o semnificaţie esenţială pentru înţelegerea legilor eredităţii, dat fiind că este legată de disjuncţia alelelor. Alelele se localizează în punctele omologe din perechile de cromosomi omologi. Astfel, în cazul heterozigotiei, alela *A* se află într-un cromosom, iar alela *a* în acelaşi locus al cromosomului omolog. În anafaza primei diviziuni meiotice, la jumătate din numărul gameţilor ajunge alela *A*, iar la cealaltă jumătate — alela *a*.

O particularitate importantă a formării nucleelor haploide ale gameţilor ca urmare a reducerii numărului de cromosomi este caracterul independent al combinării cromosomilor omologi din fiecare pereche. Aceasta este cauza marii variabilităţi în structura genetică a gameţilor. De exemplu, dacă o pereche de alele (*Aa*) este localizată într-o pereche de cromosomi, iar a doua pereche de alelele (*Bb*), într-o pereche de cromosomi, atunci — în condiţiile unei separări independente a acestor două perechi de cromosomi — trebuie să apară patru tipuri de gameţi, în număr egal, şi anume gameţii *AB*, *aB*, *Ab*, *ab*.

A doua diviziune meiotică (fig. 91 *j-m*) se bazează pe disjuncţia cromatidelor care alcătuiesc cromosomii. Din acest punct de vedere ea este asemănătoare cu mitoza obişnuită. Totuşi, cromatidele din cromosomi pot fi în acest caz diferite, dat fiind că înainte, în procesul primei diviziuni meiotice, ele au trecut prin *crossing-over*. Repartizarea diferitelor cromatide în gameţi diferiţi completează procesul variabilităţii gameţilor, ce apare pe baza încrucişării şi a combinării independente a unor perechi de cromosomi diferiţi din punct de vedere genetic, realizată în procesul meiozei.

Mitoza reprezintă diviziunea obişnuită a celulei; indiferent de alcătuirea genomului, prin ea se realizează transmiterea întregii informaţii genetice de la celulă la celulă. Meioza este proprie proceselor de maturare a celulelor germinale şi se realizează prin reducerea numărului de cromosomi. În afară de aceasta, în timpul meiozei are loc o încrucişare reciprocă ce duce la un schimb între segmentele cromosomilor omologi. Poziţia relativă a meiozei în ciclul biologic al organismelor poate să difere în funcţie de poziţia lor în scara filogenetică. Se disting trei tipuri de meioze. Primul tip este meioza zigotică, caracteristică plantelor inferioare. În acest caz, planta trăieşte ca organism haploid. Fecundarea duce la apariţia zigotului diploid, în care meioza intervine imediat. Sporii haploizi ce apar după meioză se dezvoltă formînd organisme haploide, care dau prin mitoză gameţi haploizi. În acest caz, în care meioza apare nemij-

Scanned with OKEN Scanner

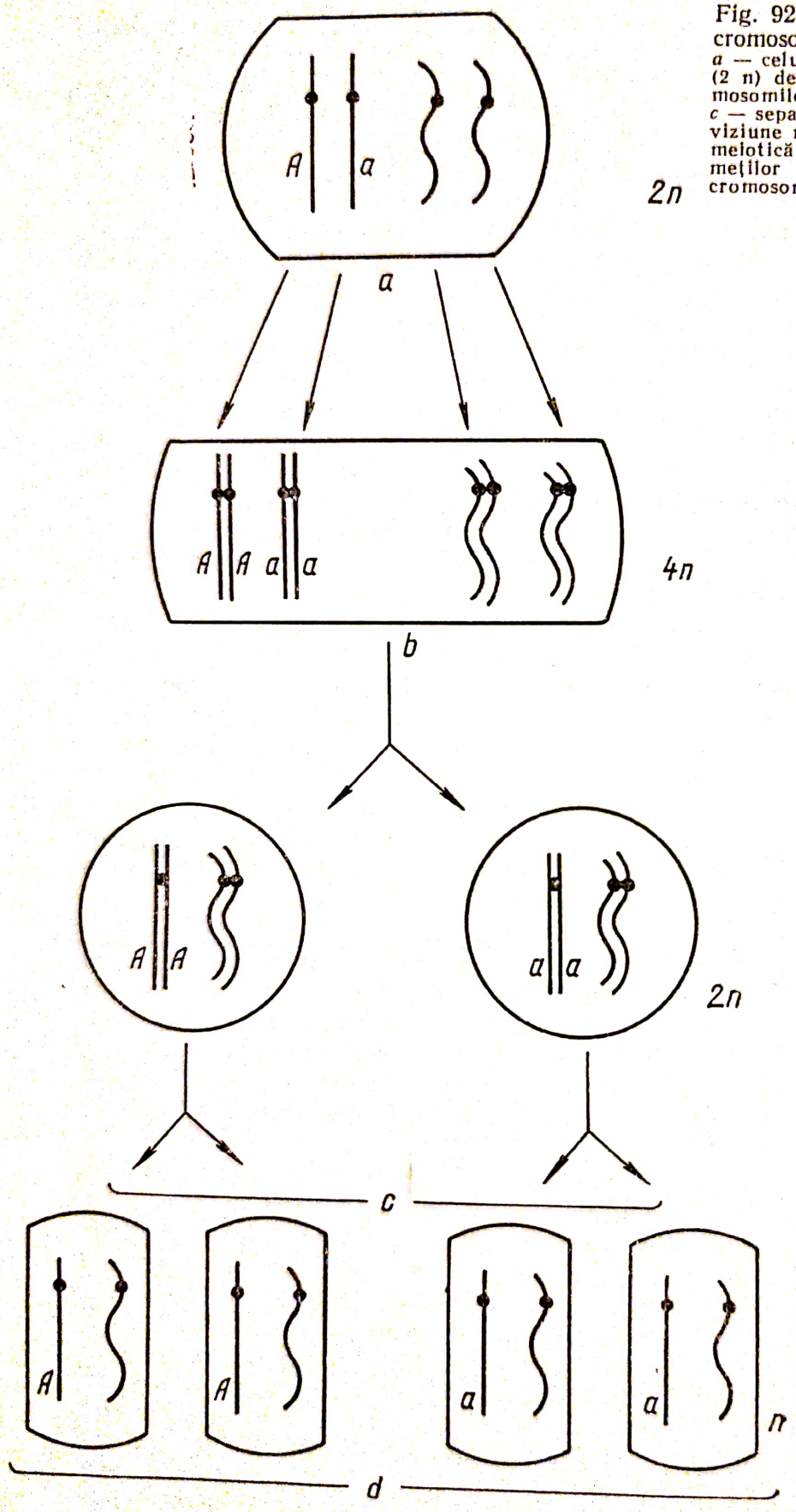


Fig. 92. Meioza cu două perechi de cromosomi:
a — celula inițială cu garnitură diploidă (2 *n*) de cromosomi; *b* — dublarea cromosomilor (4 *n*) în profaza meiozei; *c* — separarea omologilor în prima diviziune meiotică; *d* — a doua diviziune meiotică în care are loc formarea gameților cu garnitură haploidă (*n*) de cromosomi.

Scanned with OKEN Scanner

locit după fecundare, generația diploidă este redusă la existența unei singure celule — a zigotului. Al doilea tip de meioză a căpătat denumirea de intermediar. În acest caz, are loc o alternare a generației haploide cu cea diploidă. Astfel, la ferigi, paralel cu planta diploidă care prin meioză produce spori, există o generație haploidă sub formă de protal * care se dezvoltă din sporii haploizi. La angiosperme generația haploidă este reprezentată de sacul embrionar și tubul polinic. Pentru animale este caracteristic cel de-al treilea tip de meioză, care a căpătat denumirea de gametic. În acest caz întreaga viață a organismului evoluează în faza diploidă; meioza precede nemijlocit formarea gameților, iar generația haploidă este redusă la existența unei singure celule—gametul.

Legile eredității au fost temeinic studiate pe baza formelor diploide ale unor plante superioare, ca: mazărea, porumbul, grîul, laurul etc., și a unor animale, ca de pildă iepurele, șoarecele, calul, oaia, găina. În toate aceste cazuri legile eredității se manifestă pe baza reproducerii sexuate. La descendenții hibrizilor, pentru analiza acestor legi se recurge la metode statistice.

La organismele cu meioză zigotică însă, legile eredității se manifestă cu o claritate deosebită atît sub aspect biologic, cît și matematic. Aceasta se referă în special la ciupercile inferioare, de pildă la ascomiceta *Neurospora*, care în ultimele două decenii a devenit un obiect clasic pentru asemenea cercetări. Nucleul de *Neurospora* în stare haploidă conține șapte, iar în stare diploidă — 14 cromosomi (șapte perechi).

În figura 93 este înfățișat ciclul biologic la *Neurospora*, legat de alternarea fazelor haploidă și diploidă. Corpul ciupercii (miceliul) nu este împărțit în celule, fiind alcătuit din hife separate, care conțin numeroase nuclee. Toate aceste nuclee sînt însă haploide; ele conțin cîte șapte cromosomi și se înmulțesc în micelii prin mitoză. Înmulțirea asexuată a ciupercii se face prin spori: capetele miceliilor ciupercii se ridică deasupra substratului și dau naștere, prin strangulare, conidiilor unicelulare, care conțin cîte patru-cinci nuclee, și microconidiilor cu un singur nucleu. Acești spori sînt împrăștiați de vînt sau de insecte și formează noi colonii de ciuperci.

Pe miceliile care iau naștere din spori se dezvoltă organele sexuale feminine denumite protoperitecii, precum și gameții masculini (microconidii). Pentru fecundare este necesară întîlnirea dintre diferitele linii specifice ale ciupercii de sex opus. Ca aspect exterior, aceste linii nu se deosebesc, însă în cazul creșterii lor împreună are loc procesul sexual, în care fuzionarea gameților duce la formarea sporilor sexuați, sau a așa-numiților ascospori. În procesul fecundării, microconidiile de *Neurospora* de un tip (*m A* sau *m a*) ajung pe trichoginul (celula auxiliară) altui tip (respectiv *a* și *A* fig. 93) și prin intermediul acestuia pătrund în periteciu. În urma fecundării, celula peritecială conține atît nucleul propriu (de pildă, de tipul *A*), cît și un alt nucleu provenit din microconidie (de tipul *a*). Aceste nuclee nu se contopesc, asemenea celule binucleate înmulțindu-se și formînd un mare miceliu diploid (fig. 93, *4*). Fuzionarea nucleelor, adică formarea zigotului propriu zis, are loc înainte de meioză (fig. 93, *5*). După aceasta, cromosomii omologi se unesc; are loc prima și apoi a doua diviziune meiotică. Ca urmare a încrucișării și combinării independente a cromosomilor din perechi diferite, toate cele patru nuclee meiotice haploide devin calitativ diferite. Dar înainte de formarea ascosporului fiecare din aceste patru nuclee

* Protalul, generația haploidă, produce prin mitoză gameți haploizi, care la rîndul lor, prin fecundare, formează zigotul diploid din care se dezvoltă generația diploidă producătoare de spori haploizi. — *N.R.*

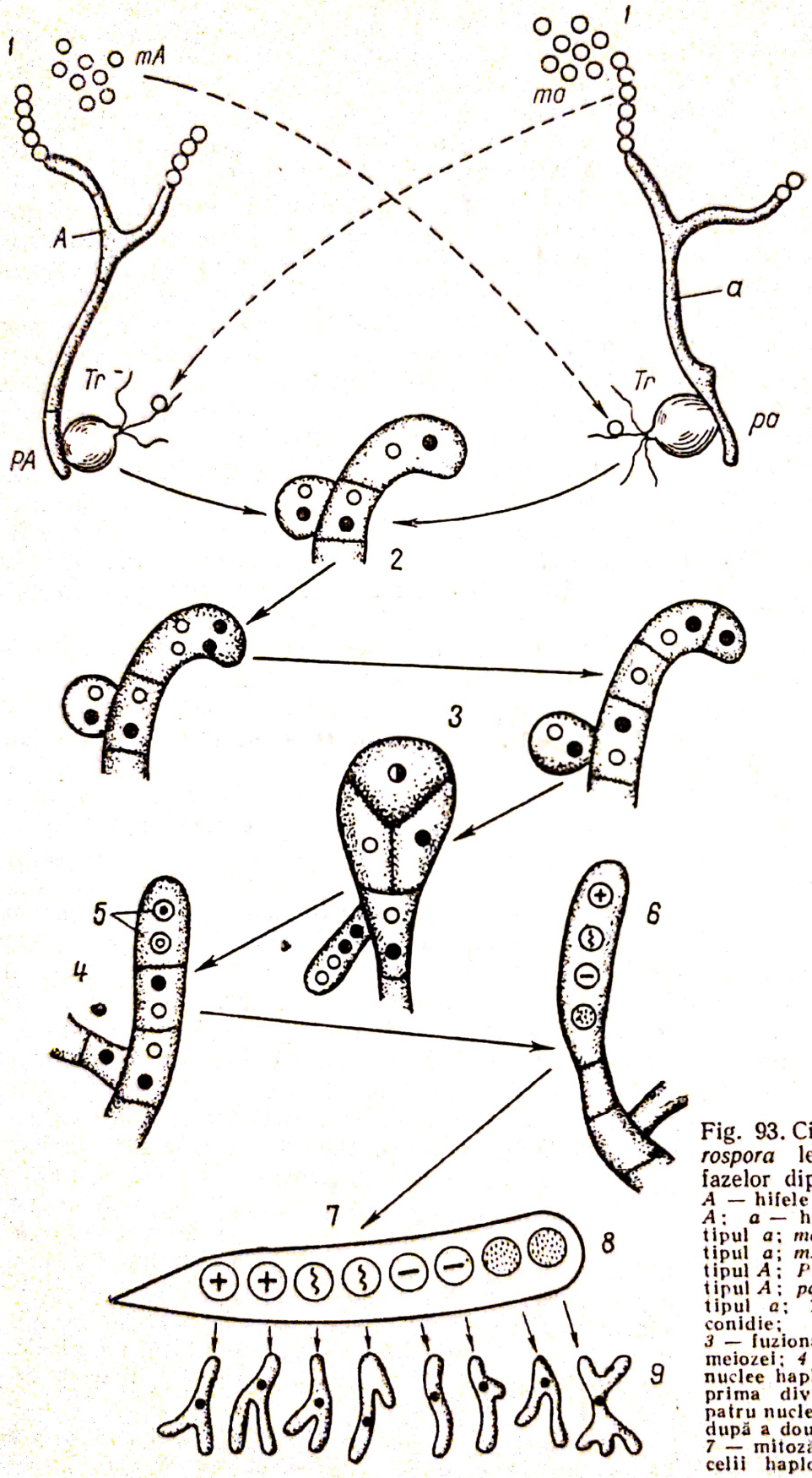


Fig. 93. Ciclul biologic la *Neurospora* legat de alternanța fazelor diploide și haploide: *A* — hifele miceliului de tipul *A*; *a* — hifele miceliului de tipul *a*; *ma* — microconidiile de tipul *a*; *mA* — microconidiile de tipul *A*; *PA* — protoperitecie de tipul *A*; *pa* — protoperitecie de tipul *a*; *Tr* — triconema: *1* — conidie; *2* — faza diploidă; *3* — fuzionarea nucleelor înaintea meiozei; *4* — meioză; *5* — două nuclee haploide care apar după prima diviziune mitotică; *6* — patru nuclee haploide care apar după a doua diviziune mitotică; *7* — mitoză; *8* — asce; *9* — micelii haploide.

Scanned with OKEN Scanner

haploide trece prin încă o mitoză și dă o pereche de nuclee haploide identice. La *Neurospora*, sporii sexuați sînt așezați într-un fel de pungi cu pereți subțiri, care au căpătat denumirea de asce. Un periteciu poate conține pînă la 300 de asce. Fiecare dintre acestea are pînă la opt spori, care conțin patru perechi diferite de nuclee haploide. Dat fiind că ascele sînt formațiuni înguste și alungite sporii sînt dispuși în ele într-o ordine liniară, care reflectă direcția formării lor în meioză și în diviziunea mitotică consecutivă a fiecăruia dintre nucleele meiotice haploide (fig. 93, 9). Ascosporii haploizi care se eliberează din ască dau naștere miceliilor haploide de *Neurospora*.

Cu ajutorul micromanipulatorului se pot detașa ascospori izolați și obține un miceliu izolat de la fiecare ască. Analiza structurii ereditare a acestor culturi omogene a lămurit atît legile eredității, cît și legile de apariție a mutațiilor. Această analiză, care a îngăduit o cercetare calitativă a fiecăruia din cele patru tipuri care se formează în sacul cu spori a căpătat denumirea de analiză tetradică.

Să analizăm segregarea monohibrizilor, adică a formelor obținute de pe urma încrucișării liniilor de ciuperci ce se disting printr-un singur caracter. Așa de pildă, încrucișarea unei linii normale (+) cu linia care posedă o creștere compactă (*c*) (colonială) duce la formarea în periteciu a unor celule heterozigote diploide (+/*c*). În prima diviziune meiotică (fig. 94) cromosomii omologi, unul cu gena + și altul cu gena *c*, se separă în diferite celule. La a doua diviziune se formează patru spori, doi cu gena + și doi cu gena *c*. După terminarea mitozei care duce la formarea ascosporilor, în ască se află alături patru spori cu gena + și patru cu gena *c*. Ne aflăm în fața unui tablou clasic de segregare monohibridă după formula 1 : 1, condiționată de separarea cromosomilor omologi în meioză. Încrucișarea organismelor care se deosebesc prin două caracteristici (însușiri) are, întrucîtva, un caracter mai complex (fig. 95).

De pildă, încrucișarea liniei care nu mai are capacitatea de a sintetiza vitamina B_1 (tiamina), dar are coloritul normal al conidiei (+ ; *b*) cu o linie normală în ce privește sinteza vitaminei, dar cu conidii portocalii (*c*; +), duce la apariția diheterozigotului (+/*b*, +/*c*). În urma primei diviziuni reducționale se formează două tipuri posibile de asce, în unul din ele unindu-se două celule ce conțin gene ++ și *cb*, iar în a doua gene +*b*, și *c*+ (fig. 95, 4). După cea de a doua diviziune meiotică și după mitoza în două asce de acest fel se realizează o totală scindare în cîte două perechi de alele. În acest caz scindarea se realizează după formula ++ : +*b* : *c*+ : *cb* în proporție de 1 : 1 : 1 : 1.

Analiza genetică a încrucișării reciproce este, de asemenea, cît se poate de semnificativă în cazul folosirii analizei tetradice.

În figura 96 este indicată, prin două gene localizate într-o pereche de cromosomi omologi $\frac{r+}{+s}$, o celulă diheterozigotă. *Crossing-over*-ul are loc în stadiul de patru cromatide. După cea de a doua diviziune reducțională, cînd cele patru cromatide se repartizează în patru celule, ies la iveală consecințele încrucișării cromosomilor. Aici, în două celule se găsesc cromosomii inițiali (*r* + și + *s*), iar în celelalte două — cromosomii încrucișați (*rs* și ++). După mitoză avem o anumită ordine a tuturor claselor de gameți (fig. 96, 6). Numărul de gameți încrucișați este în funcție de mărimea distanței dintre gene în cromosomi. Această distanță poate să difere foarte mult, de la una foarte mare, care permite încrucișarea reciprocă dintre două gene în zeci de procente, pînă la una atît de mică, încît numărul gameților încrucișați se exprimă în fracțiuni de procente.

Scanned with OKEN Scanner

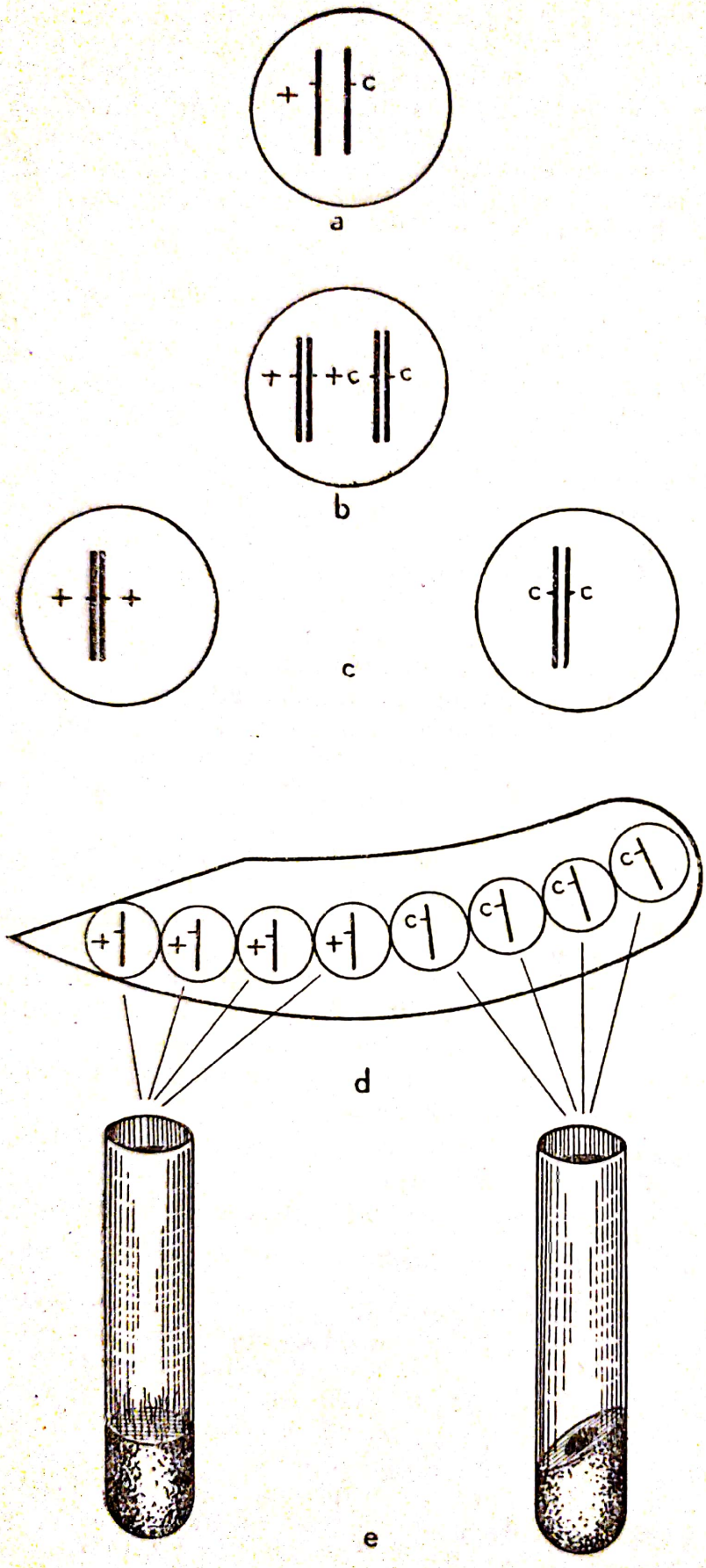


Fig. 94. Transmiterea ereditară a unei perechi de alele la *Neurospora*.

(alela + — creşterea aeriană obişnuită a miceliului; alela *c* — creşterea sub formă de colonie plată pe agar). *a* — celula germinală diploidă iniţială a heterozigotului +/c; *b* — scindarea cromosomilor în cromatide în profaza meiozei; *c* — prima diviziune meiotică, formarea celulelor după îndepărtarea omologilor care conţin cîte două cromatide surori, identice; *d* — a doua diviziune meiotică, îndepărtarea cromatidelor surori ce duce la formarea a opt ascospori haploizi. Patru ascospori cu alela + şi patru cu alela *c*; *e* — creşterea obişnuită (la dreapta) şi în colonii (la stînga) a miceliilor.

Scanned with OKEN Scanner

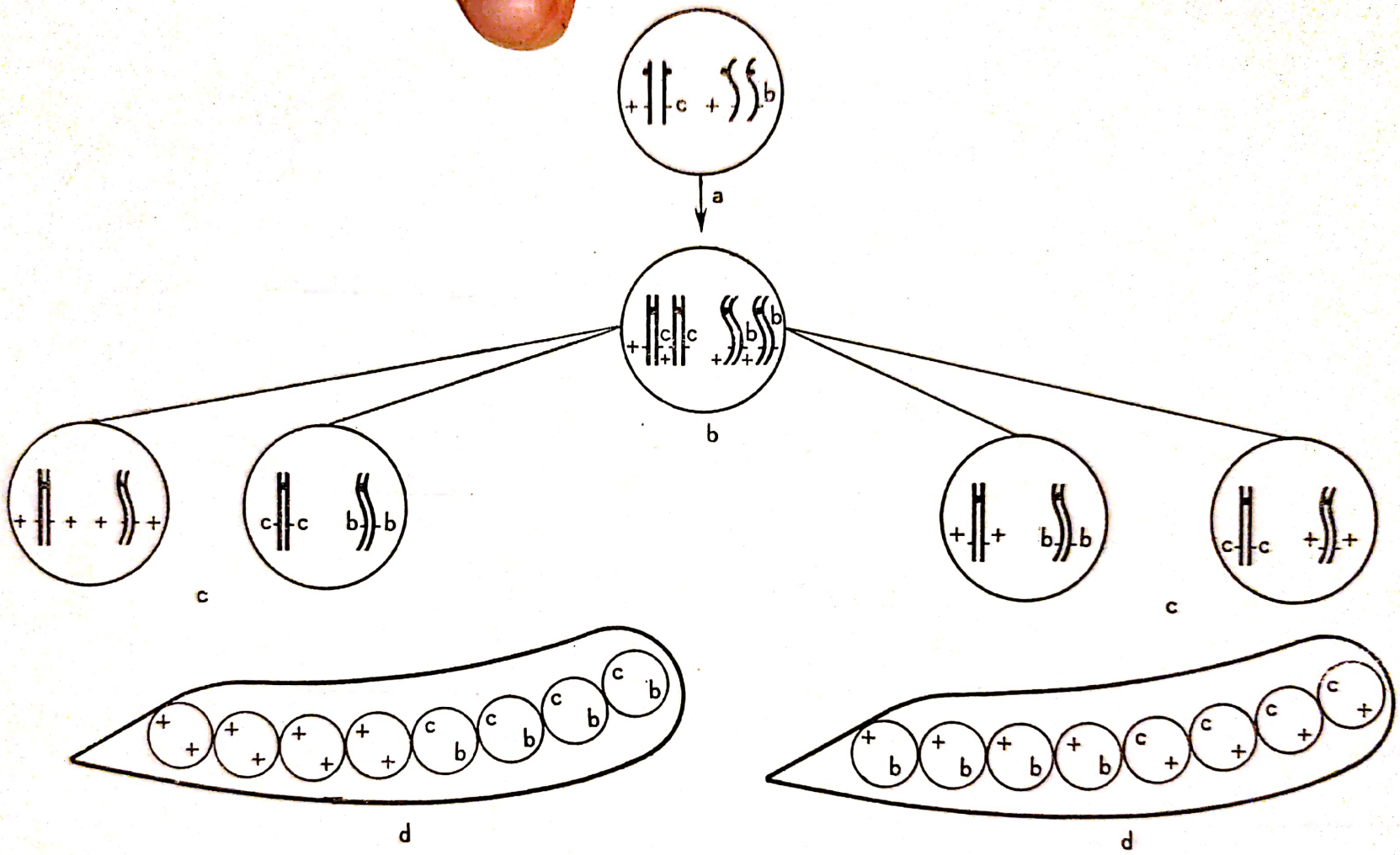


Fig. 95. Transmiterea ereditară a două perechi de alele la *Neurospora* (+ — capacitatea de sintetizare a vitaminei B_{12}):
b — mutația prin care s-a pierdut capacitatea pentru această sinteză; + — coloritul normal al conidiei; *c* — conidii portocalii; *a* — celulă germinală diploidă inițială; *b* — celulă după scindarea fiecărui cromosom în cromatide; *c* — rezultatul primei diviziuni meiotice ce duce la formarea a două tipuri de asce (la dreapta și la stînga), cu o disjuncție independentă a două perechi de cromosomi; *d* — a doua diviziune meiotică ce duce la apariția a două tipuri de ascospori (stînga) în prima ască (++ și *cb*) și a altor două tipuri (dreapta) în cea de-a doua ască (+*b* și +*c*)

Scanned with OKEN Scanner

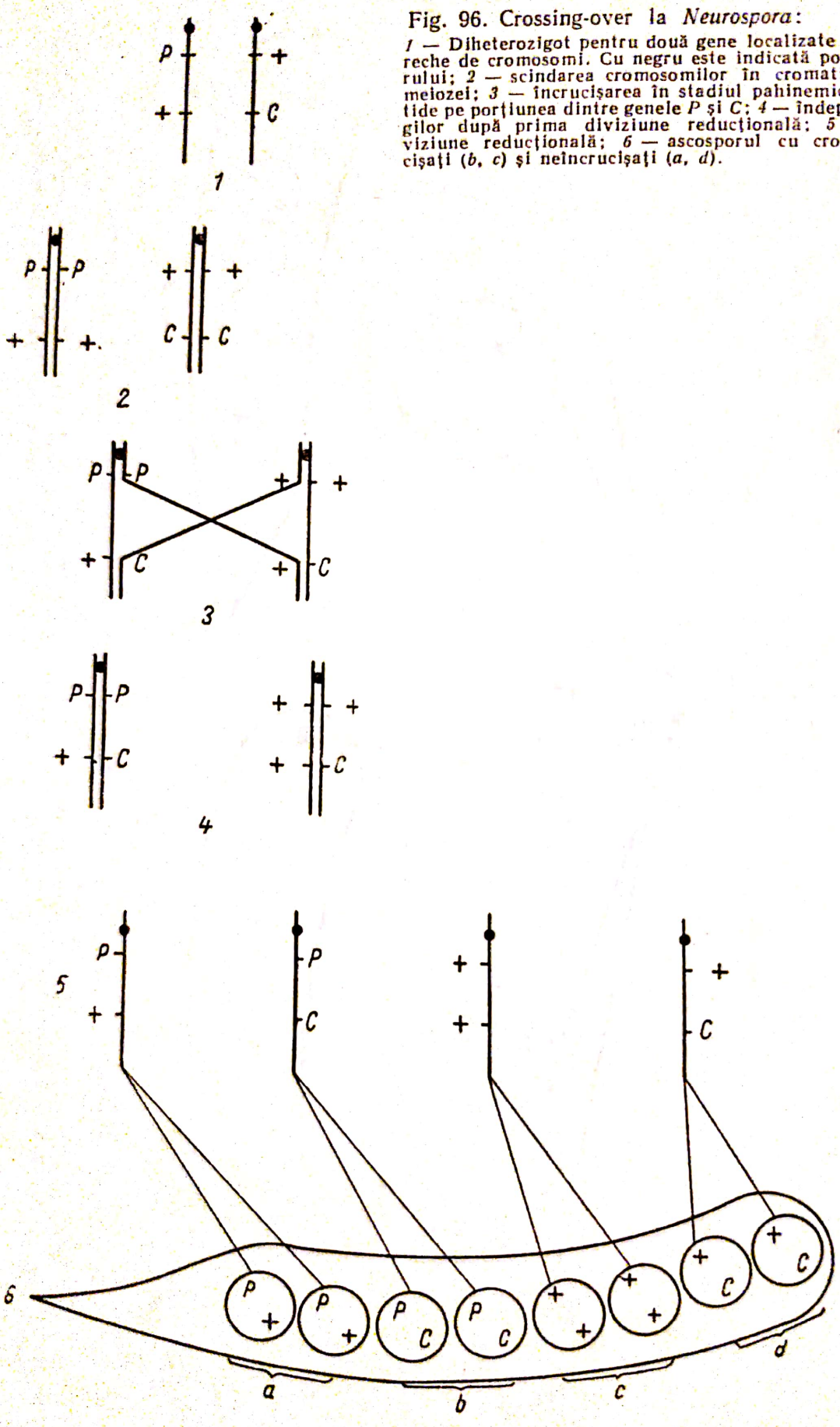


Fig. 96. Crossing-over la *Neurospora*:

1 — Diheterozigot pentru două gene localizate în aceeaşi pereche de cromosomi. Cu negru este indicată poziţia centromerului; *2* — scindarea cromosomilor în cromatide în profaza meiozei; *3* — încrucişarea în stadiul pahinemic dintre cromatide pe porţiunea dintre genele *P* şi *C*; *4* — îndepărtarea omologilor după prima diviziune reducţională; *5* — a doua diviziune reducţională; *6* — ascosporul cu cromosomi încrucişaţi (*b*, *c*) şi neîncrucişaţi (*a*, *d*).

Scanned with OKEN Scanner

Specificul repartizării cromosomilor la formarea tetradelor este de asemenea natură încît permite perceperea *crossing-over*-ului ce are loc între o anumită genă și centromer. Acest fenomen este arătat schematic în fig. 97. Schimbul duce la o poziție diferită a alelelor (+ și *a*) în cele patru cromatide. După cea de a doua diviziune reducțională și după mitoză, în asca în care au ajuns cromosomii ce n-au participat la încrucișarea reciprocă din sectorul dintre centromeri și alela *a* există două tetrade de ascospori, una din ele conținînd alela *a* (fig. 97, 6). În asca în care au ajuns gameții cu cromosomi încrucișați reciproc se constată următoarea dispoziție a ascosporilor 2+, 2*a*, 2+ și 2*a*. Numărul unor asemenea asce este direct proporțional cu distanța dintre centromer și respectiva alelă. Prin studierea poziției reciproce a genelor una față de alta și față de centromer se poate întocmi o hartă liniară a cromosomului respectiv, în care procentul de încrucișare exprimă distanțe relative atît între gene, cît și față de centromer.

Cînd trecem la organismele cu reducere gametică, adică la animalele și plantele superioare, analiza transmiterii ereditare a caracterelor cere o abordare statistică; în acest caz nu mai este posibilă o analiză tetradică exactă, expusă de noi în cazul ciupercii *Neurospora*. Aceasta nu modifică însă cîtuși de puțin principiile eredității, deoarece la baza lor se află, și în acest caz, transmiterea de-a lungul generațiilor a cromosomilor și a diferiților lor componenți (gene).

Pentru animalele gametomeiotice și pentru plantele superioare ce le sînt apropiate din acest punct de vedere, legile eredității sînt de asemenea legate de principiile meiozei și ale fecundării.

De exemplu, încrucișînd iepuri albi, care sînt homozigoți, pentru că au ambii cromosomi omologi sau alele identice (*aa*) cu un iepure negru (*AA*) obținem iepuri negri heterozigoți (*Aa*) *. Faptul că iepurii negri, atît cei homozigoți (*AA*), cît și cei heterozigoți (*Aa*), nu se deosebesc aparent unul de celălalt, a servit pentru fundamentarea ideii de fenotip și genotip. Fenotipul este complexul de proprietăți ale organismului care se dezvoltă în condiții date ale mediului, genotipul este un complex de însușiri (caractere) ereditare. Am văzut că o parte a particularităților ereditare pot să nu se manifeste la un anumit individ, dar se reflectă asupra însușirilor generațiilor următoare. Iepurele negru heterozigot (*Aa*), pe lîngă alela dominantă *A*, conține în formă recesivă, latentă, și alela *a*.

---

* Se poate reprezenta notînd cu *A* păr negru și cu *a* păr alb:

Generații	Încrucișări	*A* dominant	*A* recesiv
Parentală	*AA* × *aa*		
Filială I	*Aa Aa* × *Aa Aa*	toți negri	toți gri
Filiala II	*AA Aa Aa aa* 50% hibrizi (heterozigoți)	3 negri 1 alb	1 negru 2 gri 1 alb

Toți hibrizii din prima generație filială sînt identici, indiferent dacă există sau nu un caracter dominant, iar din generația a doua filială începe segregarea caracterelor, cu formarea din nou de homozigoți (*AA* și *aa*). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

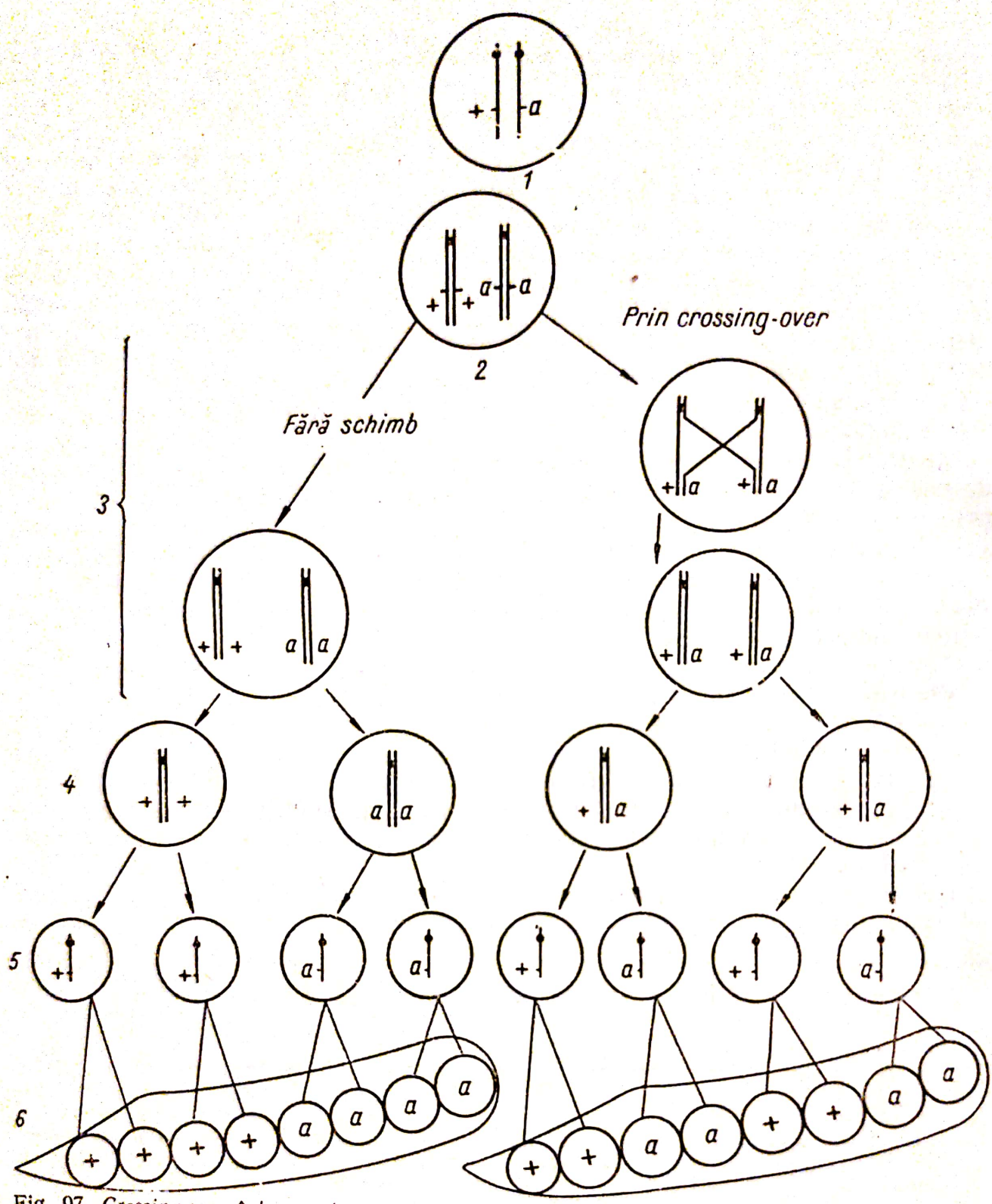


Fig. 97. *Crossing-over* între centromer și alela mutantă la *Neurospora*:
1 — celula diploidă inițială, heterozigotă, pentru alela recesivă *a*; *2* — scindarea cromosomilor în cromatide; *3* — comportarea cromosomilor fără *crossing-over* și cu încrucișare reciprocă între alela *a* și centromer; *4* — prima diviziune reducțională; *5* — a doua diviziune reducțională; *6* — asce și ascospori nerecombinați (4 : 4 stînga) și după recombinare (2 : 2 : 2 : 2, dreapta).

Influența proprietăților heterozigotice asupra generațiilor următoare poate fi constatată prin încrucișarea unui mascul cu o femelă heterozigotă. Fiecare individ heterozigot, datorită îndepărtării omologilor respectivei perechi de cromosomi la poli diferiți în meioză, formează 50% gameți cu gena *A* și tot

Scanned with OKEN Scanner

atîția gameți cu gena *a*. Fecundarea ovulelor cu spermatozoizi de aceeași compoziție genetică duce la apariția a trei categorii de descendenți, și anume: 1 *AA* + + 2*A a* + 1 *aa*.

Dat fiind că indivizii *AA* și *Aa* nu se deosebesc ca fenotip, în a doua generație, prin segregare monohibridă, vom obține un raport de trei iepuri negri la unul alb. La fel se petrec lucrurile și cu numeroase alte caractere ale celor mai felurite organisme în cazul unei segregări monohibride (fig. 98).

Nu este greu de arătat că în cazul moștenirii a două perechi de alele (*Aa*; *Bb*) transmiterea va avea un caracter independent dacă genele fac parte din două perechi diferite de cromosomi. Diheterozigotul (*AaBb*) formează patru tipuri de gameți echiprobabili (*AB*; *Ab*; *aB*; *ab*). În cazul fecundării unor astfel de ovule cu spermatozoizi de același fel vom obține nouă genotipuri și patru fenotipuri diferite. Ultimele se împart după formula *9AB*; *3aB*; *3Ab*; *1ab*. Formula generală pentru un număr de genotipuri diferite în cazul unei segregări polihibride este 3^n, unde n = numărul perechilor de alele care segregă iar numărul diferitelor fenotipuri este egal cu 2 n. Aceasta arată ce imensă este variabilitatea care intervine în descendența hibrizilor atunci cînd segregarea vizează numeroase gene.

În istoricul teoriei rolului cromosomilor în transmiterea caracterelor organismului, un loc de seamă îi revine dezlegării problemei transmiterii ereditare a sexului. Cercetările microscopice au scos la iveală faptul că în numeroase cazuri apartenența individului la sexul masculin sau feminin se poate afla studiind garnitura de cromosomi. Astfel, din cele 23 de perechi de cromosomi din celulele corpului bărbaților, 22 de perechi sînt alcătuite din parteneri omologi, iar o pereche are o structură aparte dat fiind că omologii ei sînt reprezentați prin cromosomi ce diferă ca mărime și formă. Cromosomul mare din această pereche a căpătat denumirea de cromosom *X*, iar cel mic — cromosom *Y*. S-a stabilit că la femei perechea de cromosomi sexuali este reprezentată printr-o pereche de cromosomi *X* identici. Este clar că din punct de vedere genetic, fiecare bărbat este heterozigot, deoarece diviziunea reducțională are ca rezultat formarea a două tipuri diferite de gameți (spermatozoizi). Ca urmare a reducerii cromosomilor, 50% din spermatozoizi conțin cromosomul *X*, iar ceilalți conțin cromosomul *Y*. O particularitate a cromosomilor sexuali este migrarea lor mai timpurie spre poli în diviziunea reducțională și de aceea ei se văd cu claritate în prima diviziune meiotică din celulele germinale ale bărbatului (fig.99). Pe de altă parte, dat fiind că femeia posedă o pereche identică de cromosomi sexuali *X*, ea formează numai un tip de gameți (ovule), care conțin toate cîte un cromosom *X*. Este deci limpede că dacă un ovul matur care trece prin oviduct va fi fecundat de spermatozoidul cu cromosomul *X* va apare un zigot *XX* din care se va dezvolta o fată ce va avea în toate celulele sale ambii cromosomi sexuali *X*. Dacă însă ovulul întîlnește

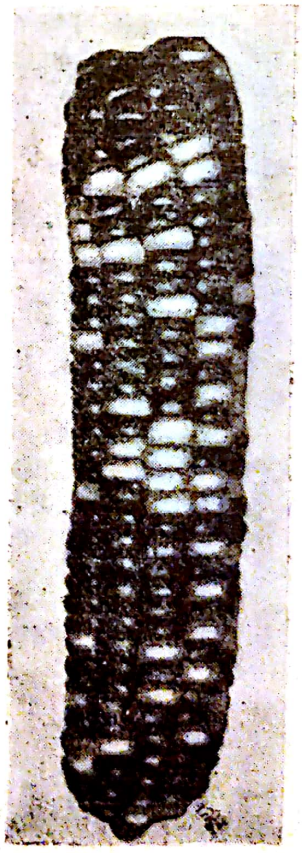


Fig. 98. Știulete de porumb cu boabe de diferite culori, ca urmare a segregării monohibride; în medie, la fiecare patru boabe trei sînt colorate, iar unul alb.

Fig. 99. Cariotipul masculin alcătuit din 44 de cromosomi autosomali și o pereche de cromosomi sexuali *XY* (*a*) și diviziunea meiotică la om, în urma căreia se formează celulele sexuale masculine — spermatozoizii (*b*).

Cromosomii sexuali *X* și *Y* se caracterizează printr-o îndepărtare mai timpurie; ei s-au și apropiat de polii celulei în timp ce cromosomii autosomali (înfățișați numai prin contururi) se află abia la începutul migrării. Gametul cu cromosomul *X* va da o fată, iar cel cu cromozomul *Y* — un băiat.

un spermatozoid cu cromosom *Y* va apare un zigot *XY* din care se va dezvolta un băiat (fig.100).

În principiu, același mecanism de determinare a sexului îl întîlnim la mamifere, păsări, pești, insecte, o parte din plante (fig.101) și la o serie de alte organisme.

Este remarcabil modul extrem de simplu și economic cu care natura obține rezultate apreciabile și cum cele mai elementare deosebiri de informație genetică sînt folosite pentru progrese radicale ale vieții. Sexul organismelor este una din proprietățile fundamentale ale viețuitoarelor. Pornind de la un anumit nivel în evoluția vieții, el devine un mecanism citogenetic unic, realizat prin moștenirea cromosomilor sexuali. Acest mecanism constituie baza apariției unui număr egal de masculi și femele în natură, deoarece segregarea monohibridă determină în cromosomii sexuali, de-a lungul generațiilor, un raport de 50 : 50% masculi și femele (vezi fig. 99). Caracterul automat al reglării corelației numerice a sexelor în natură și simplitatea definirii sexelor cu ajutorul diferențierii dintr-o pereche de cromosomi sexuali reprezintă una dintre cele mai uimitoare realizări evolutive din istoria vieții.

Segregarea constantă a cromosomilor sexuali, fapt pe care nu-l întîlnim la alți cromosomi (autosomali), este cauza unui tip deosebit de ereditate a genelor localizate în cromosomii sexuali. În acest caz se întîlnesc caractere a căror transmitere este legată de sex.

Așa de pildă, la om se cunoaște boala caracterizată prin diateză hemoragică, numită hemofilie. De această boală suferă băieții. În cazuri rare se pot îmbolnăvi de hemofilie și fetele. Cauza modului deosebit de transmitere a hemofiliei se datorește faptului că alela a cărei acțiune duce la dezvoltarea hemofiliei este localizată în cromosomul sexual (cromosomul *X*).

În toți cromosomii autosomali, ca și în perechea de cromosomi sexuali (*XX*), toate alelele sînt reprezentate prin perechi. Alta este situația cromosomilor *X* în cazul sexului heterozigotic (*XY*). Aceasta se explică prin faptul că cromosomul *Y*, avînd un oarecare număr de gene specializate, nu posedă alele pentru cele mai multe gene localizate în cromosomul *X*. Dacă lucrurile nu s-ar prezenta astfel, atunci cromosomul *Y* n-ar putea juca rolul de factor care diferențiază dezvoltarea sexului.

Drept urmare, sexul heterozigotic pentru genele localizate în cromosomul *X* nu poate fi nici homozigot, nici heterozigot, deoarece și într-un caz și în celălalt este necesară prezența unei perechi de alele. În acest caz, materialul genetic al

Scanned with OKEN Scanner

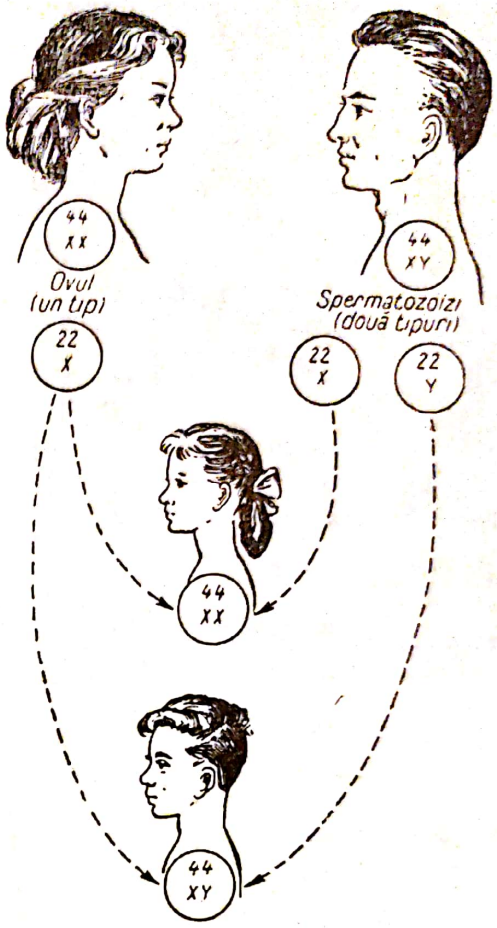


Fig. 100. Determinarea sexului descendenților la om. Nucleul celulelor la femele conține 22 de perechi de cromosomi autosomali și doi cromosomi *X*, iar la bărbat — 22 de perechi de cromosomi autosomali, un cromosom *X* și un cromosom *Y*. În gameții (ovulul) femeii se află o garnitură haploidă care conține 22 de cromosomi autosomali și un cromosom X. Gameții masculini (spermatozoizii) se împart în două tipuri: unul are 22 autosomi și un cromosom *X*, celălalt — 22 autosomi și un cromosom *Y*. Sexul embrionului este determinat în momentul fecundării și depinde, după cum se arată în desen, de structura cromosomică ce apare la unirea ovulului cu spermatozoidul.

cromosomului *X* este reprezentat prin alele izolate, această stare fiind numită hemizigotică. Ca urmare, apare o transmitere ereditară specifică, legată de sex.

De pildă, în cazul încrucișării unei femele de drosofila homozigotă după alela recesivă (*b*), care determină dezvoltarea la aceste insecte a ochilor albi, cu un mascul purtător de alelă dominantă (*B*), care determină dezvoltarea ochilor roșii, în prima generație vom obține femele cu caracterele parentale masculine și masculi cu caracterele parentale femele*. Avem în față tabloul unei ereditați încrucișate legate de sex. În a

* Dacă alelele *B* și *b* nu pot exista decît pe cromosomul *X*, femela homozigotă este *bb* (ochi albi) și masculul *BY* (ochi roșii), notînd cu *Y* cromosomul respectiv și în același timp și descendenții masculi.

Se poate reprezenta:

Generații	Încrucișări	
Parentală	*bb* × *BY*	
Filială I	*bB bB* × *bY bY*	50% femele cu ochi roșii 50% masculi cu ochi albi
Filială II	*bb bB bY BY*	femele 25% ochi albi, 25% ochi roșii masculi 25% ochi albi, 25% ochi roșii

Dacă parentalii sînt *BB* (femelă homozigot pentru ochi roșii) și masculul *bY* (ochi albi):

Generații	Încrucișări		
Parentală	*BB* × *bY*		
Filială I	*Bb*	*Bb* × *BY* *BY*	100% ochi roșii
Filială II	*BB* *Bb*	*BY* *bY*	25% femele homozigote 25% femele heterozigote 25% masculi ochi roșii 25% masculi ochi albi
	75% ochi roșii	25% ochi albi	

— *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

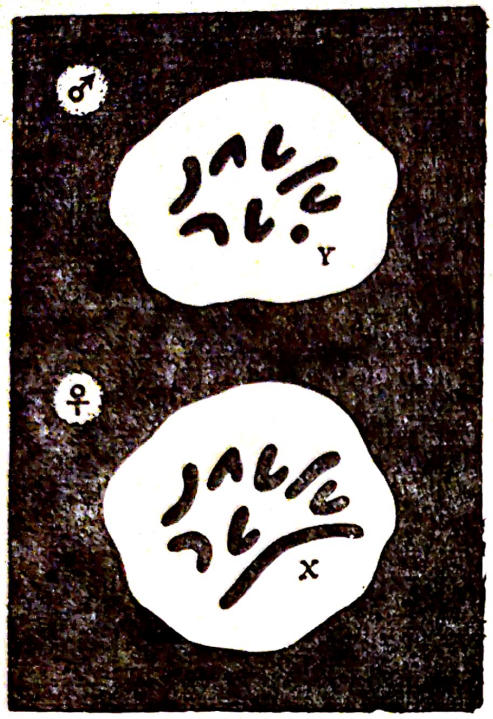


Fig. 101. Cromosomii unei plantule mascule de *Marcantia* (♂), cu 7 cromosomi (*sus*), printre care un cromosom sexual *Y* punctiform: *jos* (♀) — o garnitură de cromosomi într-o plantulă femelă cu un cromosom sexual mare (*X*).

doua generație, prin încrucișarea femelei heterozigote (*Bb*) cu masculul cu ochi albi se obțin, atît la femele, cît și la masculi, 50% indivizi cu ochi roșii și 50% indivizi cu ochi albi. Nu este greu de arătat că tocmai modul de transmitere a cromosomilor *X* și *Y*, cu alele *B* și *b* localizate în cromosomii *X*, determină într-adevăr întregul tablou al moștenirii caracterelor legate de sex. În cazul în care femelele de care este vorba au fost homozigote pentru însușirea dominantă (*BB*—cu ochi roșii), iar masculii aveau caractere recesive (*b* — cu ochi albi), tabloul eredității legate de sex se schimbă radical. În acest caz, în prima generație toți indivizii au ochi roșii, iar în a doua generație la fiecare trei indivizi cu ochii roșii apare unul cu ochi albi. Dependența eredității de sex se manifestă prin aceea că în a doua generație toate femelele au ochi roșii, iar printre masculi există indivizi atît cu ochi roșii, cît și cu ochi albi.

Revenind la cazul hemofiliei la om putem spune că această boală se moștenește ca un caracter recesiv legat de sex, a cărui alelă este localizată în cromosomul *X*. Dat fiind că bărbații bolnavi de hemofilie lasă rareori urmași, transmiterea acestei boli femeilor, pentru care este necesară obținerea de forme homozigote cu genotipul *aa*, este foarte rară. În consecință, femeile, de regulă, sînt numai heterozigote. În familia în care mama este heterozigotă prin alela hemofiliei (*Aa*), jumătate din fiii ei au, în medie, această boală ereditară de sînge*.

În cele ce urmează vom trata problema grupelor ligaturale. Pe baza exemplului bacteriilor am arătat mai sus că fiecare cromosom este purtătorul unui grup întreg de gene.

Aceasta este caracteristic pentru toate formele de viață, inclusiv animalele și plantele superioare. S-a arătat limpede că numărul perechilor de cro-

---

* Dacă mama este purtătoare recesivă (heterozigot) (*aA*) și tatăl normal (*AY*):

Părinți	*aA* × *AY*
Copii	*AA aA aY AY*

Rezultă următoarele posibilități: *AA* = fată normală, *aA* = fată purtătoare recesivă, *AY* = băiat normal, *aY* = băiat bolnav.

Dacă mama este purtătoare recesivă *aA* și tatăl bolnav *aY* (caz excepțional):

Părinți	*aA* × *aY*
Copii	*aa aA aY AY*

Pot rezulta: *aa* = fată bolnavă, *aA* = față purtătoare recesivă, *aY* = băiat bolnav și *AY* = băiat normal. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

mosomi la diferiţi indivizi este de obicei neînsemnat, pe cînd numărul de gene atinge cîteva sute sau mii. La porumb au fost studiate peste 800 de gene mutante, pe cînd numărul cromosomilor este de zece perechi: la drosofilă au fost studiate peste 1 000 de gene, pe cînd numărul perechilor de cromosomi este de patru: la om au fost studiate sub formă de boli ereditare peste 500 de mutaţii de gene, pe cînd perechile de cromosomi sînt în număr de 23*.

Fiecare pereche de cromosomi reprezintă o grupă ligaturală distinctă în a cărei componenţă intră toate genele localizate în cromosomul respectiv. Am arătat mai înainte că prin *crossing-over* se poate lămuri poziţia reciprocă a genelor una faţă de cealaltă şi se poate întocmi o hartă genetică a cromosomilor.

Să analizăm tabloul ligatural al genelor la organismele superioare luînd ca exemplu porumbul, la care se pot observa pe acelaşi ştiulete boabe diferite, ceea ce ne permite să calculăm raportul numeric al diferitelor tipuri de boabe. Aşa, de pildă, la încrucişarea unui soi de porumb în ai cărui ştiuleţi boabele sînt pline şi stratul aleuronic este colorat (*CC OO*) cu plante care au boabe zbîrcite şi stratul aleuronic incolor (*cc oo*) se obţine în prima generaţie o plantă ai cărei ştiuleţi au caractere dominante, adică boabe pline şi colorate (*Cc Oo*). La încrucişarea acestui hibrid cu forma recesivă (*cc oo*) era de aşteptat ca în prima generaţie să apară patru categorii de urmaşi, în număr egal, după o anumită schemă (tabelul 6).

Vedem că paralel cu menţinerea localizării iniţiale (în perechi) a genelor în cromosomi (*CO* şi *co*), la descendenţii hibrizilor au apărut noi combinaţii de alele în interiorul cromosomilor (*Co* şi *cO*), acestea luînd fiinţă prin *crossing-over* între locusurile respective. Aceasta se explică prin transmiterea ereditară a cromosomilor şi apariţia de noi combinaţii de gene prin *crossing-over* în celulele germinative ale hibrizilor**.

Să trecem la examinarea problemei hărţilor genetice ale cromosomilor la formele superioare. În urma studierii *crossing-over*-ului, s-a stabilit că frecvenţa încrucişării a două gene date în anumite condiţii exterioare este o mărime constantă.

Aşa, de pildă, la porumb numărul gameţilor dotaţi cu cromozomi în care meioza a implicat un *crossing-over* între genele componentei zaharoase (endospermul) şi ale endospermului deficitar este egal cu 3% din numărul total de gameţi; prin *crossing-over*, între genele componentei zaharoase şi frunzelor pătate apar 13% gameţi încrucişaţi.

După analiza a numeroase cazuri de moştenire asociată a genelor, adică a genelor localizate în interiorul unui cromosom, au fost descoperite anumite legi ale legăturilor spaţiale dintre gene. Aceste legi s-au dovedit a fi atît de clare şi stabile, încît la descoperirea unor noi alele mutante într-o anumită grupă ligaturală

---

* Nu toate mutaţiile care determină o abatere de la normal sînt cauză de boli ereditare pentru că prin boală se înţelege o tulburare importantă care face pe purtătorul genomului anormal să aibă grave deficienţe incompatibile cu o viaţă normală. Numeroase mutaţii regresive determină anomalii sau defecte ereditare (dominante sau recesive) compatibile cu o viaţă normală, adică fără alterarea capacităţii normale de adaptare la mediu. — *N.R.*

** Aceasta înseamnă că gameţii *Co* şi *cO* nu pot exista decît prin *crossing-over*. Fără încrucişarea reciprocă, descendenţii ar fi 50% *CcOo* şi 50% *ccoo* (adică numai gameţi *CO* şi *co*). — *N.R.*

Tabelul 6

CROSSING-OVER LA PORUMB

Generația parentală	*CCOO*	×	*ccoo*	
Hibrizii din prima generație încrucișați cu recesivul	*CcOo*	×	*ccoo*	
Gameții hibridului	*CO*	*Co cO*	*co*	
Gameții recesivului	*co*	*co co*	*co*	
Genotipul generației a doua	*CcOo*	*Ccoo*	*ccOo*	*ccoo*
Fenotipul boabelor	Colorate pline	Incolore pline	Colorate zbîrcite	Incolore zbîrcite
Numărul presupus de boabe în cazul în care cele două perechi de alele se află în cromosomi diferiți în %	25	25	25	25
Numărul real de boabe în cazul experienței care a arătat existența unei grupări ligaturale, adică a localizării genelor în cromosom	4032	152	149	4035
Idem, în %	48,2	1,8	1,8	48,2

a apărut posibilitatea de a stabili dinainte poziția lor pe harta genetică. Am văzut că între gena conținutului în zahăr și aceea a endospermului deficitar, la porumb se observă o frecvență de *crossing-over* de 3%, iar între gena conținutului în zahăr și frunzelor pătate — de 13%. Se poate presupune că între gena endospermului deficitar și gena frunzelor pătate frecvența *crossing-overului* va fi egală fie cu 10% (13—3), fie cu 16% (13 + 3); experiențele au arătat că ea este egală cu 10%. Astfel, distanța dintre genele *A* și *B* se dovedește a fi egală fie cu suma distanțelor (procentelor de *crossing-over*) dintre genele *A* și *b*, *C* și *B*, fie cu diferența lor. Aceste legi se pot manifesta numai în cazul poziției liniare a genelor în cromosomi.

Studiind experimental transmiterea ereditară a numeroase gene localizate în interiorul unui cromosom și stabilind cu regularitate poziția lor una față de cealaltă de-a lungul cromosomului, geneticienii întocmesc hărțile genetice ale cromosomilor. Aceste hărți sînt cunoscute deja pentru numeroși cromosomi, la o o întreagă serie de organisme.

Hărți deosebit de amănunțite au fost întocmite pentru cromosomii drosofilei, pentru cei de sîngele-voinicului, porumb, șoarece, iepure, găină, ca și pentru o serie de alte organisme.

Scanned with OKEN Scanner

Aşadar, pe baza studierii fenomenelor ligaturale şi de *crossing-over* a putut fi prezentată imaginea diferenţierii fiziologice interne a cromosomilor. S-a arătat că diferitele sectoare ale cromosomilor — genele — care programează dezvoltarea unor trăsături determinate în procesul de dezvoltare a organismului se dispun în cromosomi longitudinal, liniar şi că procesele de *crossing-over* dintre gene permit să se măsoare distanţa relativă dintre ele în interiorul cromosomilor.

Legile de transmitere a proprietăţilor ereditare de-a lungul generaţiilor de organisme diploide au fost studiate pe larg. Pe această bază se aprofundează genetica diferitelor specii de organisme de însemnătate economică (porumb, grîu, mazăre, cornute mari, oi etc.) şi experimentală (drosofilă, şoarece ş.a.). O importanţă extrem de mare o are genetica microorganismelor şi virusurilor. Ea permite să se studieze temeinic biochimia genetică a organismelor, să fie dezvăluite mecanismele sintezei proteinelor, formele de codificare a informaţiei genetice şi soluţionarea a numeroase probleme cruciale ale geneticii moleculare.

O importanţă deosebită o are genetica omului, dat fiind că numeroase boli se datoresc alterării informaţiei genetice cuprinse în cromosomi, aceasta din urmă prezentînd deci un interes deosebit pentru medicină.

S-a descoperit că secţiunea radiaţiilor ionizante produce modificări în ereditatea omului. Evaluarea acestei acţiuni are o importanţă extrem de mare atît în cazul folosirii energiei atomice în scopuri paşnice, cît şi pentru aprecierea efectelor radiaţiilor cosmice.

În capitolul următor vor fi expuse unele date esenţiale privind ereditatea la om.

BIBLIOGRAFIE

1. C. Villee, *Biology*, 3-rd ed. W. B. Saunders company, Philadelphia a. London, 1957.
2. Ch. Auerbach, *Genetics in the atomic age*, London, 1956.
3. R. P. Wagner, H. K. Mitchell, *Genetics and metabolism*, J. Wiley a. Sons. New-York, 1955.
4. E. W. Sinnott, I. C. Dunn, Th. Dobzhansky, *Principles of genetics*, 3-rd ed. Mc Craw-Hill books Co., 1950.
5. C. P. Swanson, *Cytology and cytogenetics*, Prentice-Hall, inc. 1957.
6. M. E. Lobaşev, *Ghenetica* (Curs lecţii), Izd-vo Leningradscovo gosudarstvennovo universiteta, 1963.

10. Ereditatea la om

Însemnătatea nucleului, a cromosomilor care îl alcătuiesc, constituiţi din ADN şi proteine, este demonstrată şi pentru ereditatea omului (fig.102, 103). Un exemplu grăitor al rolului eredităţii în determinarea particularităţilor

Scanned with OKEN Scanner

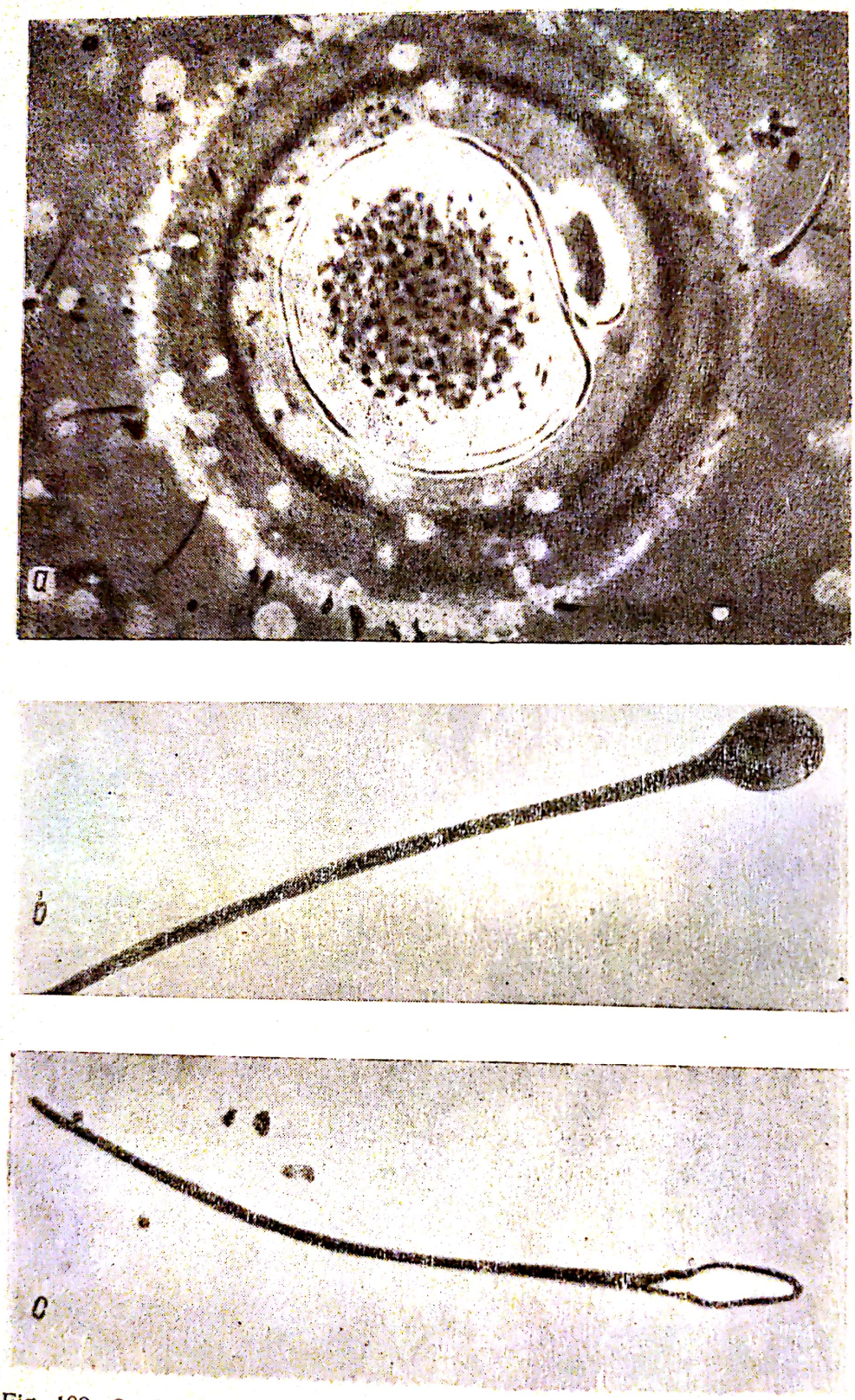


Fig. 102. Ovulul (*a*) și spermatozoidul (*b*, *c*) la om.
La mijloc o zonă clară cu granulații în centru, reprezentînd nucleul. Comparați volumul ovulului cu mărimea spermatozoidului (vezi săgeata). Mai jos se vede o microfotografie a spermatozoidului, mărire de 2 500 de ori: sus (*b*) și lateral (*c*). Informația genetică este înscrisă în moleculele de ADN acumulate în nucleul situat în capul spermatozoidului și în nucleul echivalent din ovul aflat în acesta în stare de intumescență.

Scanned with OKEN Scanner

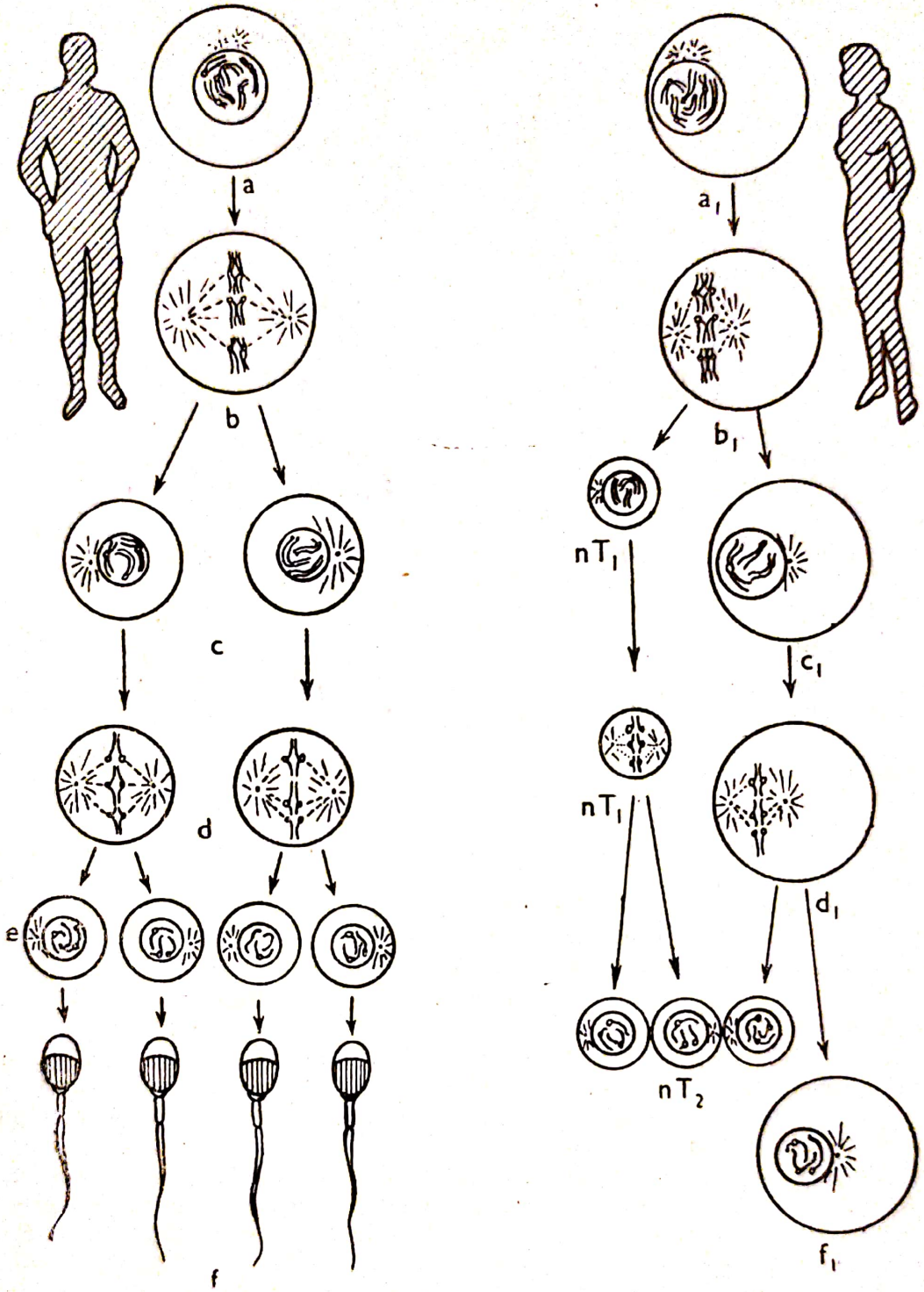


Fig. 103. Formarea celulelor sexuale la om.

a — spermatocitul primar; a_1 — oocitul primar; *b*, b_1 — conjugarea cromosomilor omologi, metafaza primei diviziuni meiotice; nT_1, nT_2 — corpusculii polari primar și secundar; *c* — spermatocitul secundar; c_1 — oocitul secundar; *d*, d_1 — metafaza celei de a doua diviziuni meiotice; *e* — spermatide; *f* — spermatozoizi; f_1 — ovul matur.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 104. Gemene univiteline.

individuale ale oamenilor ni-l oferă uimitoarea asemănare a aşa-numiţilor gemeni univitelini.

Gemenii umani sînt de două tipuri, şi anume: univitelini şi bivitelini. Gemenii bivitelini iau fiinţă din două ovule diferite maturizate simultan şi fecundate independent de spermatozoizi diferiţi. Aceşti gemeni nici nu se deosebesc de fapt de fraţii şi surorile obişnuite, diferenţa constînd numai în dezvoltarea lor intrauterină simultană. Ca şi o pereche de copii născuţi unul după altul, gemenii bivitelini sînt, în 50% din cazuri, de sexe diferite, în 25% din cazuri ambii sînt băieţi, iar în 25% ambii sînt fete.

Un tablou cu totul deosebit apare în cazul naşterii unor gemeni univitelini, care posedă o informaţie genetică identică. Gemenii univitelini primesc informaţia genetică de la o singură celulă iniţială fecundată. După prima mitoză, această celulă se divide în două celule (blastomere), conţinînd nuclee identice. În cazul separării acestor blastomere identice din punct de vedere genetic, fiecare dintre ele dă naştere unui embrion aparte.

Gemenii univitelini se disting printr-o asemănare uimitoare (fig.104). Deseori nici mamele nu-i pot deosebi şi fac semne pe hainele lor pentru a nu-şi confunda copiii. Această uimitoare asemănare fizică, fiziologică şi clinică se poate menţine pînă la maturitate şi chiar pînă la adînci bătrîneţe, ceea ce în prezent este demonstrat pe baza unui vast material.

Dacă comparăm în ce măsură se manifestă la gemenii univitelini şi bivitelini bolile ereditare şi stările patologice vom obţine rezultatele înfăţişate în tabelul 7,

Scanned with OKEN Scanner

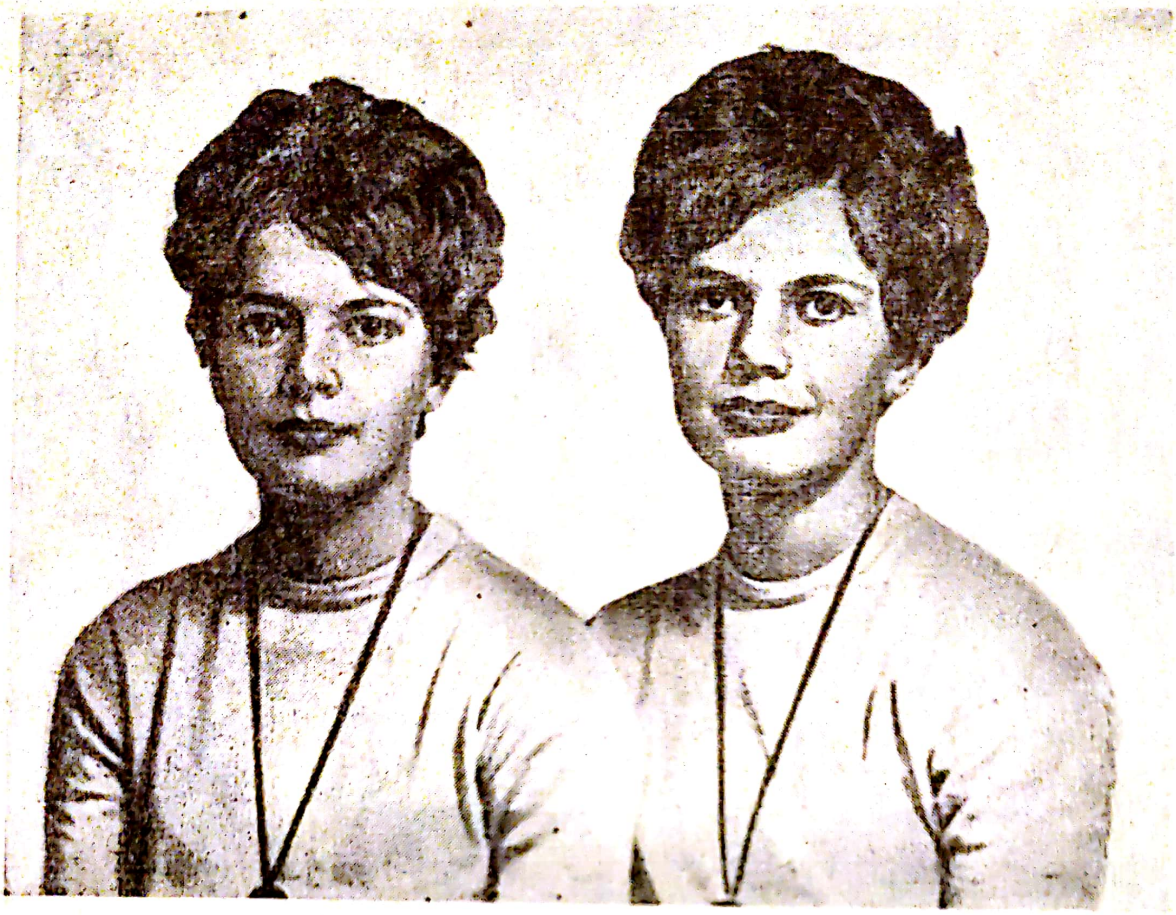


Fig. 104. Gemene univiteline.

individuale ale oamenilor ni-l oferă uimitoarea asemănare a aşa-numiţilor gemeni univitelini.

Gemenii umani sînt de două tipuri, şi anume: univitelini şi bivitelini. Gemenii bivitelini iau fiinţă din două ovule diferite maturizate simultan şi fecundate independent de spermatozoizi diferiţi. Aceşti gemeni nici nu se deosebesc de fapt de fraţii şi surorile obişnuite, diferenţa constînd numai în dezvoltarea lor intrauterină simultană. Ca şi o pereche de copii născuţi unul după altul, gemenii bivitelini sînt, în 50% din cazuri, de sexe diferite, în 25% din cazuri ambii sînt băieţi, iar în 25% ambii sînt fete.

Un tablou cu totul deosebit apare în cazul naşterii unor gemeni univitelini, care posedă o informaţie genetică identică. Gemenii univitelini primesc informaţia genetică de la o singură celulă iniţială fecundată. După prima mitoză, această celulă se divide în două celule (blastomere), conţinînd nuclee identice. În cazul separării acestor blastomere identice din punct de vedere genetic, fiecare dintre ele dă naştere unui embrion aparte.

Gemenii univitelini se disting printr-o asemănare uimitoare (fig.104). Deseori nici mamele nu-i pot deosebi şi fac semne pe hainele lor pentru a nu-şi confunda copiii. Această uimitoare asemănare fizică, fiziologică şi clinică se poate menţine pînă la maturitate şi chiar pînă la adînci bătrîneţe, ceea ce în prezent este demonstrat pe baza unui vast material.

Dacă comparăm în ce măsură se manifestă la gemenii univitelini şi bivitelini bolile ereditare şi stările patologice vom obţine rezultatele înfăţişate în tabelul 7,

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 7

FRECVENȚA BOLILOR (ÎN %) LA CEL DE-AL DOILEA GEMEN ÎN CAZUL ÎMBOLNĂVIRII UNUIA DINTRE GEMENI ÎN CONDIȚIILE UNEI PATOLOGII EREDITARE SAU A PREDISPOZIȚIEI PENTRU EA

	Buză de iepure	Picioare malformate	Afecțiune pilorică congenitală	Diabet zaharat	Schizofrenie	Psihoză maniacală depresivă	Debilitate mintală (idioție etc.)	Tuberculoză
Gemeni univitelini	33	32	68	65	69	96	97	68
Gemeni bivitelini	5	3	3	18	10	19	37	23

din care se vede cît de însemnat este rolul eredității în evoluția bolilor enumerate. Astfel, în cazul îmbolnăvirii unui gemen bivitelin de tuberculoză, celălalt gemen se îmbolnăvește și el în 23% din cazuri, iar gemenii univitelini în 68% din cazuri. Este vorba deci de o predispoziție constituțională, evidentă în ceea ce privește reactivitatea față de factorii externi.

Dacă vom compara datele prezentate în tabelul 6 cu datele privitoare la îmbolnăvirile gemenilor în care rolul dominant îl au factorii infecțioși exogeni, pentru care particularitățile constituționale ale oamenilor au o semnificație secundară, vom obține un tablou cu totul diferit (tabelul 8).

Tabelul 8

FRECVENȚA BOLILOR (ÎN %) LA CEL DE-AL DOILEA GEMEN ÎN CAZUL ÎMBOLNĂVIRII UNUIA DINTRE EI DE O BOALĂ INFECȚIOASĂ

	Rugeolă	Pneumonie	Difterie	Oreion	Tuse convulsivă
Gemeni univitelini	98	58	50	82	97
Gemeni bivitelini	94	43	38	74	93

Desigur, evoluția bolilor infecțioase depinde, de asemenea, și de particularitățile ereditare ale organismului. Vedem că pentru boli ca rugeola, tusea convulsivă, oreionul ș.a. în cazul unei infecții la unul dintre gemeni, cel de-al doilea gemen se îmbolnăvește, indiferent de identitatea sau deosebirea genotipurilor lor. O importantă particularitate specifică gemenilor univitelini constă în faptul că în mod obligatoriu ambii au același sex (două fete sau doi băieți).

Dezvoltarea unei ființe umane normale din ovulul fecundat se bazează pe existența unui nucleu celular normal, ce posedă 46 de cromosomi (fig.105). Exemplul gemenilor univitelini arată cu cîtă precizie transmite mitoza în generațiile celulare întreaga informație genetică. Cei doi gemeni se dezvoltă din blastomerele rezultate din ovulul fecundat după prima mitoză. Această mitoză, care a împărțit zigotul în două celule, fiecare din ele generînd un gemen separat, a transmis în mod riguros acestor gemeni întreaga informație genetică apărută în zigot după unirea ovulului și a spermatozoidului. Ce s-ar întîmpla însă dacă ar fi afectată structura armonioasă a nucleului celular?

În paragraful consacrat sintezei proteinelor am văzut că dezvoltarea organismului și activitatea sa biologică se bazează pe o reglare armonioasă precisă a pro-

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 105. Cromosomii unui om (bărbat) compuşi din 22 de perechi de cromosomi autosomali şi o pereche de cromosomi sexuali (X, Y):

a — schema unei garnituri haploide de cromosomi ai omului; cromosomii autosomali sînt aşezaţi după mărime, avîndu-se în vedere poziţia relativă a centromerelor lor. Merită atenţie structura individuală a fiecărui cromosom; *b* — microfotografia unei garnituri diploide de cromosomi ai omului cu notarea cifrică a fiecărui cromosom, exceptînd cei sexuali, care sînt notaţi cu literele X şi Y.

ceselor de biosinteză a proteinelor care au loc sub controlul cromosomilor, pe matriţele moleculelor de ARN-i pe care le transmit în citoplasmă. Această armonie a dezvoltării va fi fără îndoială afectată dacă în nucleul zigotului va apărea un cromosom în plus (46 + n) sau dacă va lipsi vreunul (46—n).

În ceea ce priveşte unele animale şi plante, se ştie de mult că sub influenţa unor factori externi şi interni evoluţia mitozei şi meiozei poate fi tulburată, apărînd fenomenul de nondisjuncţie a cromosomilor. Dacă din cauza nondisjuncţiei cromosomilor în celulă vor ajunge, în urma meiozei, ambii cromosomi omologi, atunci e natural că cealaltă celulă soră va fi lipsită de un cromosom.

Fenomenul nondisjuncţiei cromosomilor sexuali (X) a fost studiat în mod amănunţit la drosofilă. Drosofila femelă are doi cromosomi X: la formarea ovulelor, după meioză, în acestea rămîne cîte un cromosom X. În cazul nondisjuncţiei. ambii cromosomi X ajung într-un singur ovul (gamet XX), iar celălalt ovul este lipsit de cromosom sexual (gamet o).

Un tablou analog s-a stabilit în prezent şi pentru om. Rezultatul fecundării cu spermatozoizi normali a gameţilor femeli (ovule), atît normali, cît şi rezultaţi prin nondisjuncţia cromosomilor sexuali, este înfăţişat în tabelul 9.

Vedem, aşadar, că la unirea unor gameţi normali apar în 50% din cazuri zigoţi ce se dezvoltă ca fete (XX), iar în 50% — ca băieţi (XY). Această schemă de determinare normală a sexului se schimbă brusc în cazul fecundării cu sperma-

Tabelul 9

TIPURILE DE ZIGOŢI APĂRUŢI LA FECUNDAREA CU SPERMATOZOIZI NORMALI A OVULELOR NORMALE ŞI A OVULELOR APĂRUTE ÎN CAZUL NONDISJUNCŢIEI CROMOSOMILOR SEXUALI X

Spermatozoizi normali	Ovule normale	În cazul nondisjuncţiei	
	X	XX	O
X	XX	XXX	XO
Y	XY	XXY	YO

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 106. Garnitura de cromosomi la un bolnav cu sindrom Klinefelter, conținînd 47 de cromosomi în loc de 46, cîți sînt în mod normal (*a*).

Cromosonul în plus este *Y*, adăugat la cei doi cromosomi *X*. Mai jos este înfățișat cazul unui mozaic cariotipic la om: cariotipul cu un cromoson *Y* în plus *XXY*(*c*), o celulă normală (*XX*) care a pierdut cromosomul *Y* (*b*).

tozoizi normali a gameților cu cromosomi sexuali nondisjuncți, adică a ovulelor cu structura *XX* și *O*. În acest caz e de așteptat apariția unor zigoți cu o garnitură din trei cromosomi sexuali *X* (*XXX*), a unor zigoți cu structura *XXY* și cu structura *XO* și *YO*.

La analiza citologică a nucleelor celulelor unor oameni cu boli grave specifice s-a descoperit că tulburările cromosomice proprii acestor bolnavi apar tocmai ca urmare a nondisjuncției cromosomilor sexuali, aceasta avînd loc în procesele ovogenezei la femei. Astfel, cercetarea băieților care prezintă sindromul Klinefelter a arătat că în nucleele celulelor lor se află 47 de cromosomi, în loc de 46. Analiza microscopică arată că cromosomul în plus este, în acest caz, un cromosom *X*. Astfel, bărbații cu sindrom Klinefelter au o structură *XXY*. Aceasta demonstrează rolul deosebit al cromosomilor *Y* la determinarea sexului masculin (fig.106). Bolnavii cu sindrom Klinefelter se caracterizează prin tulburări în dezvoltarea gonadelor, prin sterilitate, stare generală de apatie, debilitate mintală. Structura cromosomică a nucleelor poate fi afectată și în procesul de dezvoltare individuală. Ca urmare, apare un mozaic cromosomic, în sensul că o parte a țesuturilor posedă o garnitură de cromosomi, iar cealaltă parte, nuclee de altă componență cromosomică. Într-unul din cazurile studiate la un bolnav cu sindrom Klinefelter s-a stabilit că majoritatea celulelor aveau o structură deosebită a nucleului, cu un cromosom sexual în plus (*XXY*)*. Totuși, din cauza desfășurării proceselor de nondisjuncție asomatică, în unele celule apare o structură normală, cu doi cromosomi sexuali (*XY*). Aceste celule disparate, aflate în organismul unui băiat, aparțin ca structură cromosomică sexului feminin.

În ultima vreme s-a descoperit un mare număr de boli cromosomice, adică boli legate de o anumită tulburare în structura nucleelor celulelor omului. Examinarea unor fete cu sindrom Sereșevski-Turner a arătat că ele au 45 de cromosomi. În nucleele celulelor lor lipsește un cromosom *X*, iar structura cromosomică a unor

* Se obișnuiește să se vorbească despre cariotip, adică tipul nuclear din punctul de vedere al structurii cromosomiale. Este vorba deci de posibilitatea ca în același organism să existe populații de celule cu cariotipuri diferite, de exemplu un cariotip cu cromosomi sexuali *XXY* și altul cu cromosomi sexuali *XX*.

Chiar în organisme care se dezvoltă din zigoți cu cariotipuri normale e posibil ca în cursul dezvoltării ontogenetice să apară prin nondisjuncție, deleție, mutație populații de celule cu cariotipuri modificate. Toate celulele somatice care au același cariotip formează un clon. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

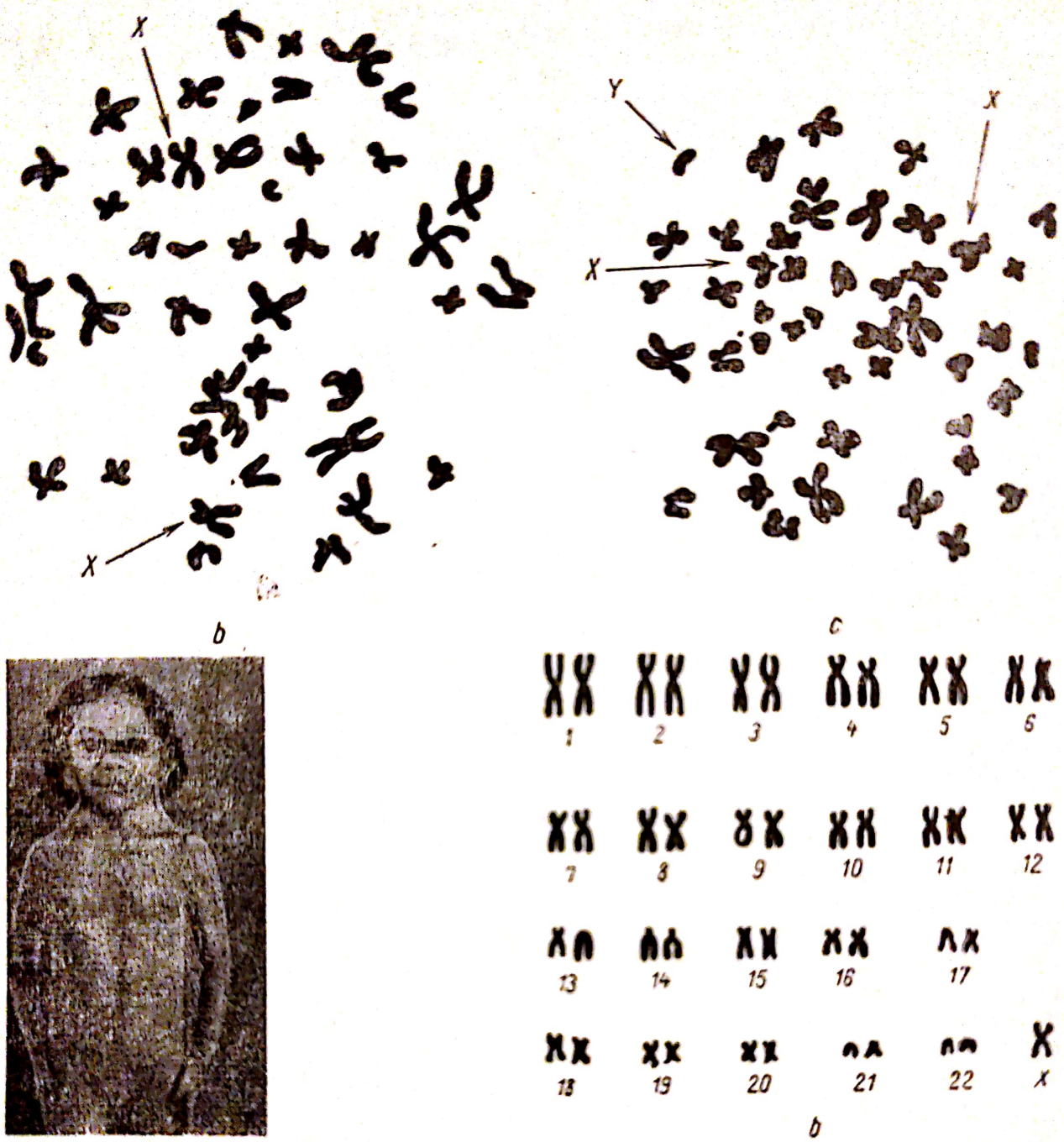


Fig. 107. Boala Sereşevski-Turner:
a — o fetiță cu acest sindrom; *b* — cariotipul unei bolnave care în loc de doi cromosomi *X* are un singur cromoson sexual — cariotipul *XO*.

astfel de bolnave este de tipul *XO* (fig.107). De asemenea au fost descoperite femei cu trei cromozomi *X* (*XXX*), la care s-a constatat o dezvoltare mai slabă a caracterelor sexuale secundare și debilitate mintală. Complexul cromosomic al unor asemenea femei bolnave, cu un cromosom *X* în plus, este arătat în fig. 108. Așadar, în prezent s-au găsit la om toate anomaliile legate de nondisjuncția cromosomilor sexuali.

În ceea ce privește ultimul tip, și anume *YO*, zigotul lipsit în întregime de cromosomul *X* este atît de deficitar, încît embrionul piere într-un stadiu de dezvoltare foarte timpuriu.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 108. Cariotipul unei femei care are un cromosom *X* în plus, o trisomie a cromosomului *X* — cariotipul *XXX*.

Cercetările efectuate asupra unor plante ca laurul, grîul, cît și asupra drosofilei și a altor organisme au arătat însă că fenomenul nondisjuncției nu este propriu numai cromosomilor sexuali, ci el poate afecta orice pereche de cromosomi autosomali. La om aceasta poate avea loc pentru oricare din cele 22 de perechi de cromosomi autosomali. Ca și în cazul cromosomilor sexuali, atunci cînd are loc o nondisjuncție în gamet, cromosomul perechii respective poate să se piardă (gametul *O*), sau să existe în număr dublu (gametul *AA*). Fecundarea cu un spermatozoid normal care posedă un singur cromosom din respectiva pereche (*A*) duce, în primul caz, la apariția unui nucleu cu 45 de cromosomi (zigotul *A* haploid pentru cromosomul respectiv), iar în al doilea caz duce la apariția unui zigot în al cărui nucleu se vor afla 47 de cromosomi (zigotul *AAA*, trisomie pentru cromosomul respectiv, deci cu un cromosom în plus).

Dat fiind că la om toate perechile de cromosomi poartă o informație ereditară diferită, rezultă că cele 44 de tipuri de dereglări care apar ca urmare a nondisjuncției în cele 22 de perechi de cromosomi trebuie să dea diferite tipuri de dezvoltare anormală. După cît se pare multe dintre ele afectează atît de serios dezvoltarea embrionului, încît acesta piere într-un stadiu timpuriu. Sînt însă cîteva tipuri de asemenea anomalii ce apar ca urmare a nondisjuncției într-o anumită pereche de cromosomi autosomali, care în prezent sînt cunoscute. Astfel, în cazul apariției de indivizi cu 47 de cromosomi, între care trei cromosomi *21* (de tip *21*, *21*, *21*), unul din cromosomii mici duce la nașterea unor copii cu debilitate mintală constituțională (fig. 109). Această maladie gravă poartă denumirea de sindrom Down și apare, în medie, la unul din 600—800 de nou-născuți. De

Fig. 109. Cariotipul bolnavilor cu sindromul oligofrenic al lui Down, trisomia cromosomului autosomal 21.

Scanned with OKEN Scanner

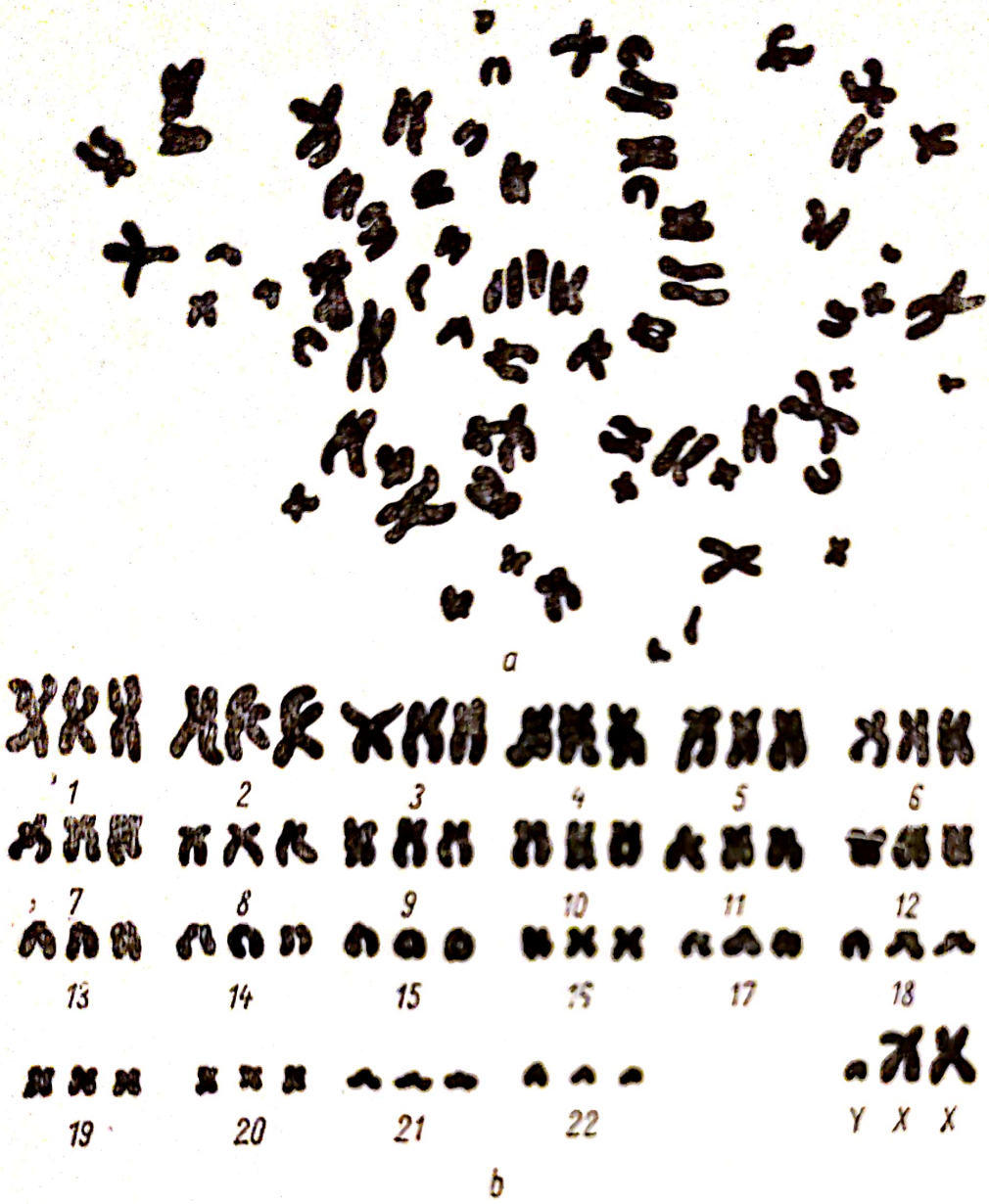


Fig. 110. Cariotipul unui băiat cu o garnitură triploidă de cromosomi, 66 autosomali şi 3 sexuali — *XXY*; mai jos:
a — microfotografia nucleului; *b* — cariotipul desfăşurat al unui trisomic.

asemenea, s-a stabilit faptul că în cazul nondisjuncţiei perechii de cromosomi autosomali *16*, nou-născuţii cu cîte trei cromosomi *16* prezintă serioase deformări ale scheletului.

Deoarece fiecare cromosom are înregistrat un mare număr de cuvinte din întregul vocabular al informaţiei genetice a nucleului, este pe deplin explicabil faptul că atît trisomia, cît şi lipsa unor cromosomi duc la serioase tulburări ale organismului uman. Semnificaţia echilibrului în mecanismul de funcţionare a nucleului este bine ilustrat în triploidia generală descoperită la un băiat (fig.110). În acest caz, deşi toţi cromosomii sînt reprezentaţi în număr triplu, băiatul are mai puţine defecte în comparaţie cu copiii trisomici, care aveau un cromosom autosomal în plus (*AAA*) sau copiii cu cromosomi haploizi, care au pierdut unul din cromosomii autosomali (*A*).

Scanned with OKEN Scanner

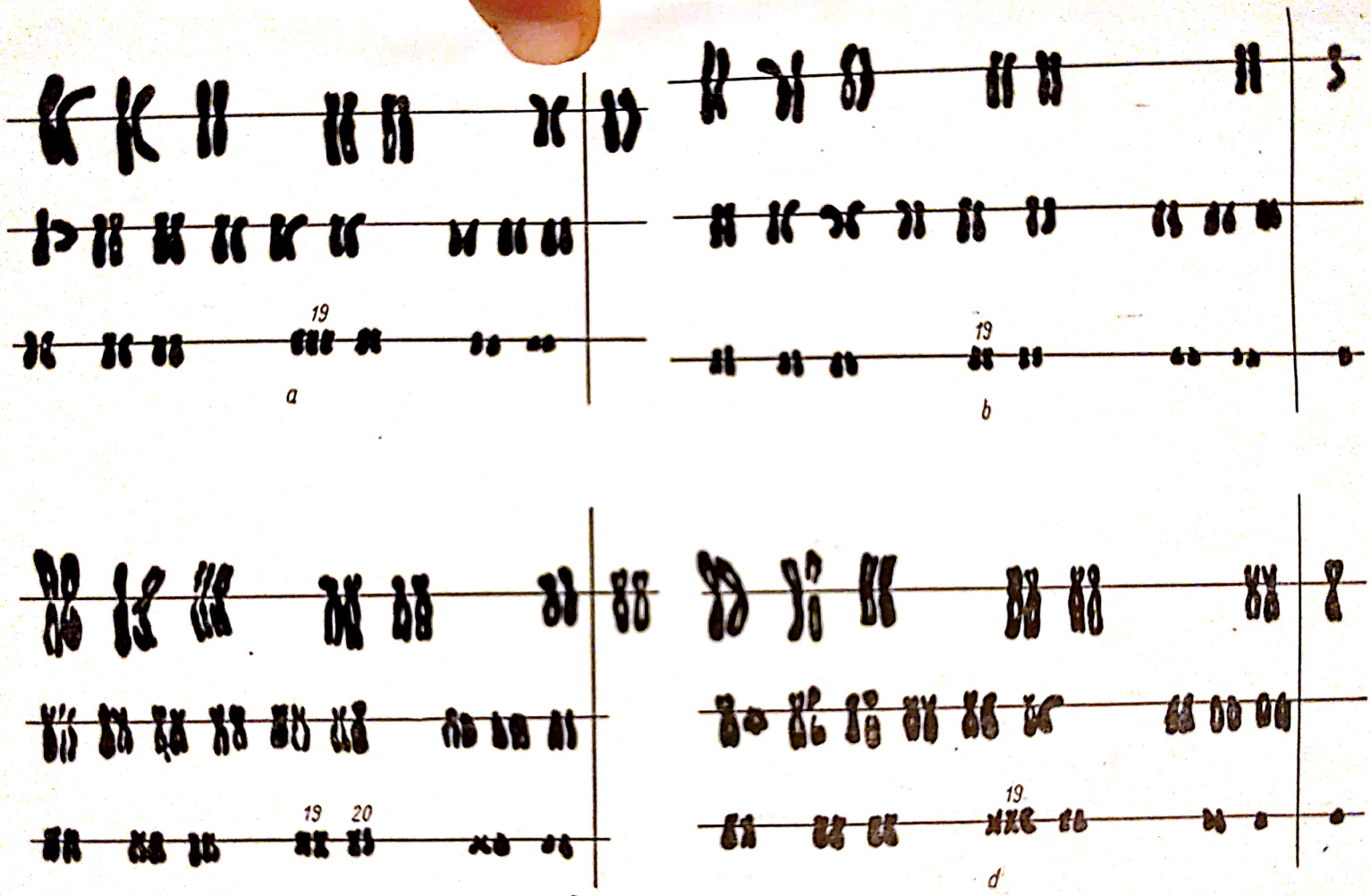


Fig. 111. Transmiterea ereditară a unei anomalii cardiace la om, urmărită la nivelul cromosomilor:
a — mama e bolnavă, avînd un cromosom în plus în perechea 19; *b* — tatăl e sănătos, cu cariotip normal; cromosomul 19 este sub formă de pereche; *c* — fiica e sănătoasă, cromosomul 19 este reprezentat printr-o pereche; *d* — fiul are anomalia cardiacă a mamei, adică un cromosom 19 în plus. În toate desenele cromosomii autosomali sînt despărțiți de cromosomii sexuali printr-o linie.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 112. Un băiat cu leucemie şi cu sindromul lui Down. Vezi caracteristica cromosomică în fig. 113, 114.

Studiile amănunţite făcute pe drosofilă, porumb, *Tradescantia*, şoarece şi alte organisme au arătat că variabilitatea cromosomilor nu se limitează la adăugarea sau pierderea unor cromosomi. Această variabilitate poate cuprinde şi structura cromosomilor, determinînd suprimarea unui fragment din cromosomul respectiv (deleţie), transferul unor fragmente între diverşi cromosomi (translocaţie), mutarea unor fragmente în interiorul cromosomului (inversiune) şi alte modificări. Variabilitatea structurală a cromosomilor este larg reprezentată în celulele omului. În prezent s-a stabilit că în celulele ţesuturilor canceroase au loc procese intense de variabilitate cromosomică, ce duc la apariţia unor celule poliploide (celule cu una sau mai multe garnituri complementare de cromosomi, şi anume: triploide, tetraploide etc.), a unor celule cu un surplus sau cu un deficit de diferiţi cromosomi ca urmare a nondisjuncţiei cromosomilor, precum şi a unor celule cu diferiţi cromosomi modificaţi din punct de vedere structural. În cîteva cazuri de cancer s-a descoperit existenţa unor modificări cromosomice specifice. Astfel, una din formele de leucemie mieloidă cronică este legată de scurtarea braţului lung al cromosomilor perechii *21* prin suprimarea fragmentului mijlociu. În acest caz transformarea malignă (cancerizarea) a celulelor sanguine este rezultatul apariţiei unei modificări mutante a perechilor de cromosomi *21* (lipsa părţii mijlocii a braţului lung al cromosomului), într-o singură celulă mieloblastică şi apoi descendenţii acestei celule mutante înlocuiesc toate celulele hematopoetice normale.

Un caz interesant de analiză cromosomială a unei boli ereditare a omului îl constituie exemplul unei malformaţii a inimii (defectul septului interatrial). În figura 111 *a* este arătată genealogia unei familii care prezenta o astfel de malformaţie. Această genealogie are însă un caracter neobişnuit; s-a urmărit nu numai modul cum se moşteneşte boala, ci sînt studiate şi cariotipurile membrilor acestei familii. Acest nou tip de genealogie poate fi denumit genealogie a cariotipurilor. Analiza citologică a arătat că mama bolnavă a avut un cromosom în plus (fig.111*a*) în una din perechi (19). Tatăl avea un cariotip normal, conţinînd o pereche de cromosomi 19 obişnuită (fig.111,*b*). Fiica acestor părinţi era sănătoasă, avînd totodată un cariotip normal (fig.111,*c*). Fiul era bolnav, avînd defectul de sept cardiac. În cariotipul său cromosomul 19, ca şi la mama sa, era trisomic (fig.111, *d*).

Un mare interes prezintă analiza cromosomică a apariţiei la un băiat a sindromului lui Down şi a leucemiei (fig.112). S-a stabilit că printre bolnavii cu sindrom Down, leucemia apare de cincisprezece ori mai frecvent decît la oamenii fără acest

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 112. Un băiat cu leucemie şi cu sindromul lui Down. Vezi caracteristica cromosomică în fig. 113, 114.

Studiile amănunţite făcute pe drosofilă, porumb, *Tradescantia*, şoarece şi alte organisme au arătat că variabilitatea cromosomilor nu se limitează la adăugarea sau pierderea unor cromosomi. Această variabilitate poate cuprinde şi structura cromosomilor, determinînd suprimarea unui fragment din cromosomul respectiv (deleţie), transferul unor fragmente între diverşi cromosomi (translocaţie), mutarea unor fragmente în interiorul cromosomului (inversiune) şi alte modificări. Variabilitatea structurală a cromosomilor este larg reprezentată în celulele omului. În prezent s-a stabilit că în celulele ţesuturilor canceroase au loc procese intense de variabilitate cromosomică, ce duc la apariţia unor celule poliploide (celule cu una sau mai multe garnituri complementare de cromosomi, şi anume: triploide, tetraploide etc.), a unor celule cu un surplus sau cu un deficit de diferiţi cromosomi ca urmare a nondisjuncţiei cromosomilor, precum şi a unor celule cu diferiţi cromosomi modificaţi din punct de vedere structural. În cîteva cazuri de cancer s-a descoperit existenţa unor modificări cromosomice specifice. Astfel, una din formele de leucemie mieloidă cronică este legată de scurtarea braţului lung al cromosomilor perechii *21* prin suprimarea fragmentului mijlociu. În acest caz transformarea malignă (cancerizarea) a celulelor sanguine este rezultatul apariţiei unei modificări mutante a perechilor de cromosomi *21* (lipsa părţii mijlocii a braţului lung al cromosomului), într-o singură celulă mieloblastică şi apoi descendenţii acestei celule mutante înlocuiesc toate celulele hematopoetice normale.

Un caz interesant de analiză cromosomială a unei boli ereditare a omului îl constituie exemplul unei malformaţii a inimii (defectul septului interatrial). În figura 111 *a* este arătată genealogia unei familii care prezenta o astfel de malformaţie. Această genealogie are însă un caracter neobişnuit; s-a urmărit nu numai modul cum se moşteneşte boala, ci sînt studiate şi cariotipurile membrilor acestei familii. Acest nou tip de genealogie poate fi denumit genealogie a cariotipurilor. Analiza citologică a arătat că mama bolnavă a avut un cromosom în plus (fig.111*a*) în una din perechi (19). Tatăl avea un cariotip normal, conţinînd o pereche de cromosomi 19 obişnuită (fig.111,*b*). Fiica acestor părinţi era sănătoasă, avînd totodată un cariotip normal (fig.111,*c*). Fiul era bolnav, avînd defectul de sept cardiac. În cariotipul său cromosomul 19, ca şi la mama sa, era trisomic (fig.111, *d*).

Un mare interes prezintă analiza cromosomică a apariţiei la un băiat a sindromului lui Down şi a leucemiei (fig.112). S-a stabilit că printre bolnavii cu sindrom Down, leucemia apare de cincisprezece ori mai frecvent decît la oamenii fără acest

Scanned with OKEN Scanner

sindrom. Mai mulţi cercetători au arătat că, luat separat, sindromul lui Down este legat de existenţa unui cromosom în plus (al 21-lea*). În cazul prezenţei în acelaşi timp a sindromului Down şi a leucemiei, cariotipul prezintă aspecte noi şi foarte interesante.

Analiza genealogică a unei familii numeroase la care s-a studiat structura nucleelor celulare** (fig.113) arată că băiatul bolnav de leucemie şi cu sindrom Down avea un cariotip complex (fig.113, *III*, 20). Nucleele celulelor acestui băiat conţineau 46 de cromosomi, adică aveau în aparenţă o structură normală. Totuşi analiza citologică amănunţită a arătat că în nucleele celulelor bolnavului un cromosom din grupa 13—15 (fig.114) era modificat prin translocaţie cu unul din cromosomii acrocentrici*** scurţi (din grupa perechilor 21—22 sau cromosomul *Y*). În plus unul din cromosomii acrocentrici lungi are braţul scurt prelungit. De aceea, cariotipul bolnavului prezintă o translocaţie între doi cromosomi şi duplicarea parţială a unuia din ei. Se poate vedea că din cei trei fraţi ai bolnavului (fig.113, *III*, 17—21), doi au translocaţie în cariotip. Unul dintre ei (fig. 113, *III*, 21) are numai translocaţie, iar altul (fig.115) translocaţie şi un mic fragment central (fig.113, *III*, 17). Ambii erau normali, sănătoşi. Sora care avea un cariotip normal (fig.113, *III*, 19), era perfect sănătoasă. Tatăl acestor copii avea o structură normală a cromosomilor (fig.113, *II*, 4). Mama din această familie (fig.113, *II*, 5) avea o translocaţie şi un fragment central mic. Cariotipul ei este arătat în fig. 116. Ea prezenta cîteva anomalii neînsemnate, dar bine conturate (nu a mers pînă la vîrsta de 5 ani, era de statură mică etc.). În două cazuri la unii membri ai acestei familii cu cariotip normal s-au descoperit modificări cromosomice. Astfel, la un unchi al băiatului bolnav (fig.113, *II*, 2), care avea o garnitură normală de cromosomi, s-a găsit în una din celule un tablou clar de translocaţie între cromosomii din grupa 7—12. Avem în faţă un exemplu interesant de variabilitate cromosomică în cadrul aceleiaşi familii. De multe ori prezenţa unei restructurări cromosomice nu se reflectă asupra sănătăţii purtătorului ei (fig.113, *III*, 17 şi 21). În alte

---

* Trisomia 21.

** Stabilirea cariotipului la om întîmpină greutăţi: cromosomii nu pot fi puşi în evidenţă decît în celulele în mitoză, atunci cînd fiecare cromosom este format din două cromatide unite printr-un centromer. După dimensiunile lor şi după poziţia centromerilor se pot forma patru grupe de perechi de cromosomi:

grupe	I	1	2	3	4	5	6	*X*
	II	7	8	9	10	11	12	
	III	13	14	15	16	17	18	
	IV	19	20	21	22	*Y*		

După dimensiuni, cromosomul *X* este intermediar între grupa I şi II şi cromosomul *Y* similar cromosomilor din grupa IV.

Grupele pot fi identificate în mod exact. Cromosomii perechilor 1, 2, 3 şi 16 pot fi uşor identificaţi dar este greu de deosebit perechea 4 de 5, perechile din grupa II între ele; perechile 13, 14 şi 15 din grupa III între ele, 17 de 18, 19 de 20; 21 şi 22 de *Y* (şi 6 de *X*).

Cînd o anomalie (nondisjuncţie, deleţie, translocaţie) interesează cromosomii autosomali se stabileşte grupa de perechi în care se găseşte anomalia şi numai în al doilea rînd, dacă este posibil, se stabileşte şi perechea sa (vezi fig.105, 106 *a*, 107, 108, 109, 110 şi 114 *b*). În fig. 111 cromosomii autosomali sînt aranjaţi în trei grupe şi opt subgrupe.

Anomaliile de nondisjuncţie ale cromosomilor sexuali se identifică, în general, mai uşor. Cînd cariotipul este normal se vorbeşte de euploidie, spre deosebire de aneuploidii care pot fi poliploidii sau anomalii ale unei anumite perechi de cromosomi.—*N.R.*

*** Centromerul care leagă cele două cromatide ale fiecărui cromosom poate fi mai apropiat de una din extremităţi, adică acrocentric, sau aproximativ la egală distanţă de capetele cromatidelor — metacentric.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

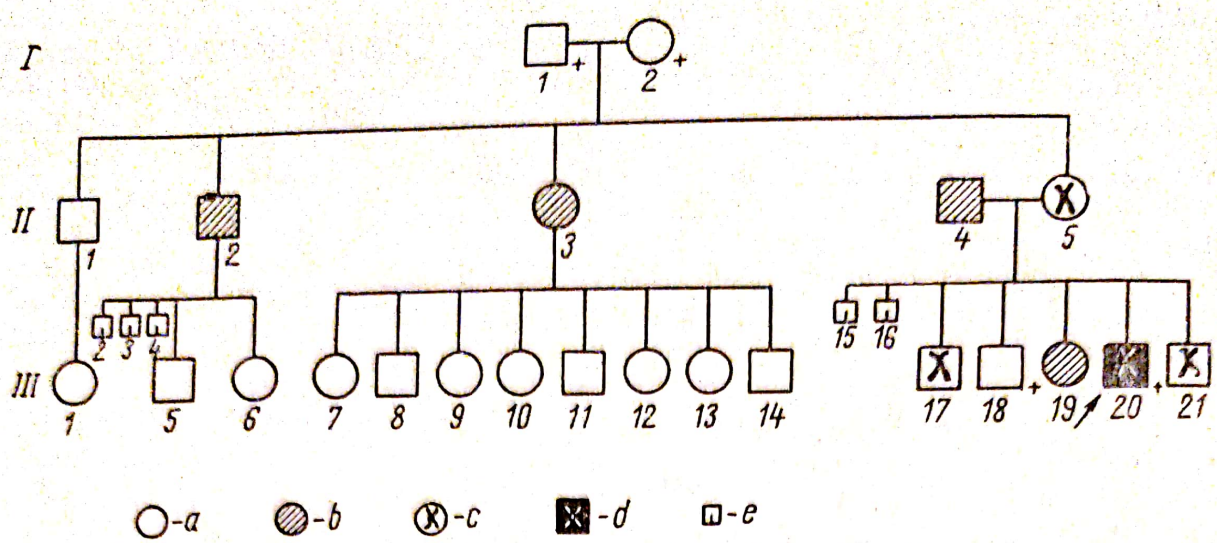


Fig. 113. Genealogia familiei unui băiat cu leucemie şi sindrom Down:
a — cariotipul nu e studiat; *b* — o garnitură normală de cromosomi; *c* — prezenţa translocaţiei şi a altor tulburări cromosomice; *d* — un băiat bolnav de leucemie şi cu sindromul Down; *e* — avorturi spontane. Pătratele indică bărbaţii, cercurile — femeile; I — părinţii; II — copiii; III — nepoţii.

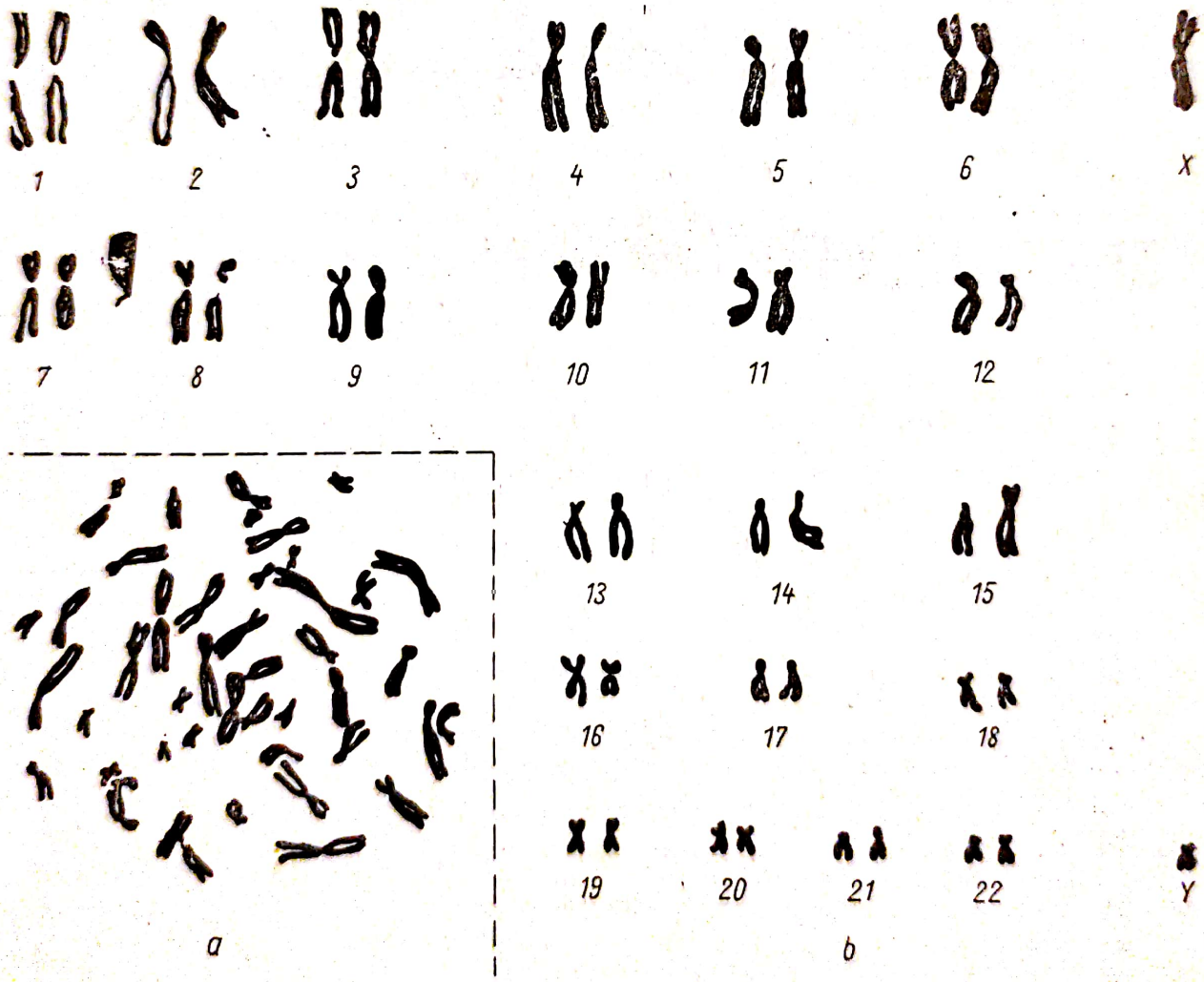


Fig. 114. Cariotipul băiatului cu leucemie şi cu sindrom Down; unul din cromosomii mari (15) a fost modificat prin translocaţie cu un cromosom scurt (21) iar unul din cromosomi (14) are un braţ scurt prelungit:
a — microfotografia cromosomilor bolnavului; *b* — ideograma cromosomilor.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 115. Garnitura cromosomică a fratelui bolnavului conține o translocație și un mic fragment cromosomial central (indicat de săgeată).

cazuri se manifestă o anumită influență dăunătoare a cariotipului modificat (fig. 113, *II*, 5). În sfîrșit, în cazul unor modificări specifice în structura cromosomilor sub forma combinării translocației cu duplicația părții unuia dintre cromosomi apare o dublă îmbolnăvire: sindromul lui Down și leucemia. În prezent se știe că boala lui Down apare în cazul unor modificări ale cromosomilor însă în toate cazurile este implicat, după cum se pare, unul și același cromosom, și anume perechea 21. S-a arătat mai sus că trisomia acestui cromosom determină apariția sindromului lui Down. Unele date arată că același sindrom se dezvoltă la persoane la care cromosomul 21 a intrat în translocație cu un alt cromosom. În cazul descris mai sus, prezența unei translocații nu a dus la apariția sindromului lui Down. Combinarea translocației cu duplicația părții unuia din cromosomi a provocat simultan sindromul lui Down și leucemia.

Materialul expus arată însemnătatea pe care o are tulburarea structurilor cromosomice în nucleele celulelor omului pentru apariția unor boli grave. Aceste descoperiri au dus la o impetuoasă dezvoltare a unui nou domeniu al geneticii medicale, și anume a citogeneticii bolilor ereditare ale omului și a citogeneticii cancerului.

Este însă neîndoielnic faptul că informația ereditară înscrisă în structurile moleculare ale cromosomilor omului poate fi modificată numai prin schimbarea organizării structurale, vizibilă la microscop, a nucleului celular.

Analizînd datele privind genetica moleculară a bacteriilor, virusurilor, animalelor și plantelor superioare, am arătat că mutațiile care modifică structura moleculară a unor locusuri ale cromosomilor (mutații genice) pot tulbura profund biochimia și fiziologia celulei și a organismului. Sinteza enzimelor, proteinelor, vitaminelor și a altor substanțe de importanță vitală este programată de genele cromosomilor. Oare în cazul proprietăților biologice ale omului avem același aspect de programare a structurii celulare și a structurii organismului de către sistemul complex discontinuu al moleculelor de ADN localizat în cromosom ca și la celelalte organisme? Datele extrem de bogate privitoare la genetica umană

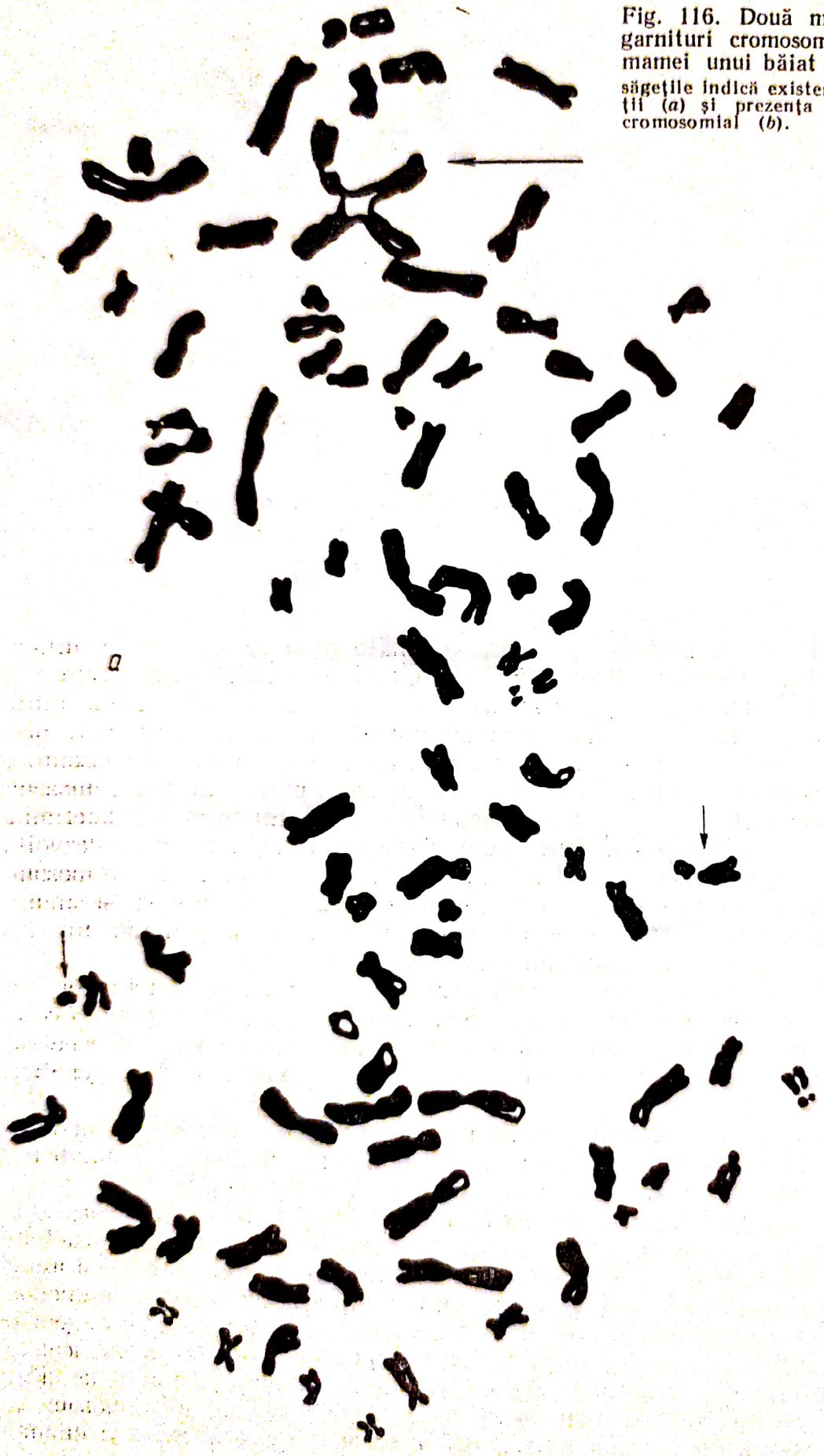


Fig. 116. Două microfotografii de garnituri cromosomice din celulele mamei unui băiat bolnav:
săgeţile indică existenţa unei translocaţii (*a*) şi prezenţa fragmentului micromosomial (*b*).

Scanned with OKEN Scanner

nu lasă nici o îndoială că omul ca obiect biologic nu contrazice, nici sub acest aspect, unitatea dintre viață și manifestarea principalelor sale proprietății biologice.

În prezent sînt cunoscute mai mult de 500 de boli ale omului, a căror cauză o constituie tulburările moleculare ale structurii sale ereditare. Printre aceste boli amintim apariția unor tulburări ale scheletului și țesutului conjunctiv, ale sistemului muscular, aparatului cardio-vascular, hematopoetic, tubului digestiv, sistemului nervos central, organelor de simț, proceselor metabolice etc. La baza apariției acestor boli se află alterarea uneia din verigile unui proces de biosinteză provocată de modificarea programării ca urmare a faptului că gena normală a suferit o mutație.

Se cunosc cîteva tipuri principale de tulburări mutaționale ale biosintezelor la om. Vom lua ca exemplu cazul cînd alele mutante tulbură procesele de apariție ale unor anumite enzime necesare metabolismului normal al fenilalaninei. În urmă cu vreo treizeci de ani, la bolnavii suferinzi de o anumită formă de debilitate mintală s-a descoperit în urină o creștere bruscă a cantității de acid fenilpiruvic. Boala a căpătat denumirea de fenilcetonurie. Analiza genealogică a acestor bolnavi a subliniat caracterul ereditar al bolii, a cărei apariție este cauzată de acțiunea unei gene recesive mutante. Oxidarea normală a fenilalaninei în tirozină este legată de acțiunea unei enzime a cărei apariție în celulă este programată de o anumită alelă normală, localizată într-unul din cromosomi (fig. 117).

Dacă o alelă mutantă recesivă a acestei gene care și-a pierdut capacitatea de a programa sinteza enzimei se află în stare homozigotă, oxidarea fenilalaninei în tirozină nu se mai produce. În cazul blocării lanțului normal de reacții începe oxidarea fenilalaninei în acid fenilpiruvic, care este eliminat prin urină.

Fenilcetonuria* reprezintă doar un exemplu de tulburare ereditară a metabolismului fenilalaninei. Prin mutații se pot bloca și alte căi de metabolizare a

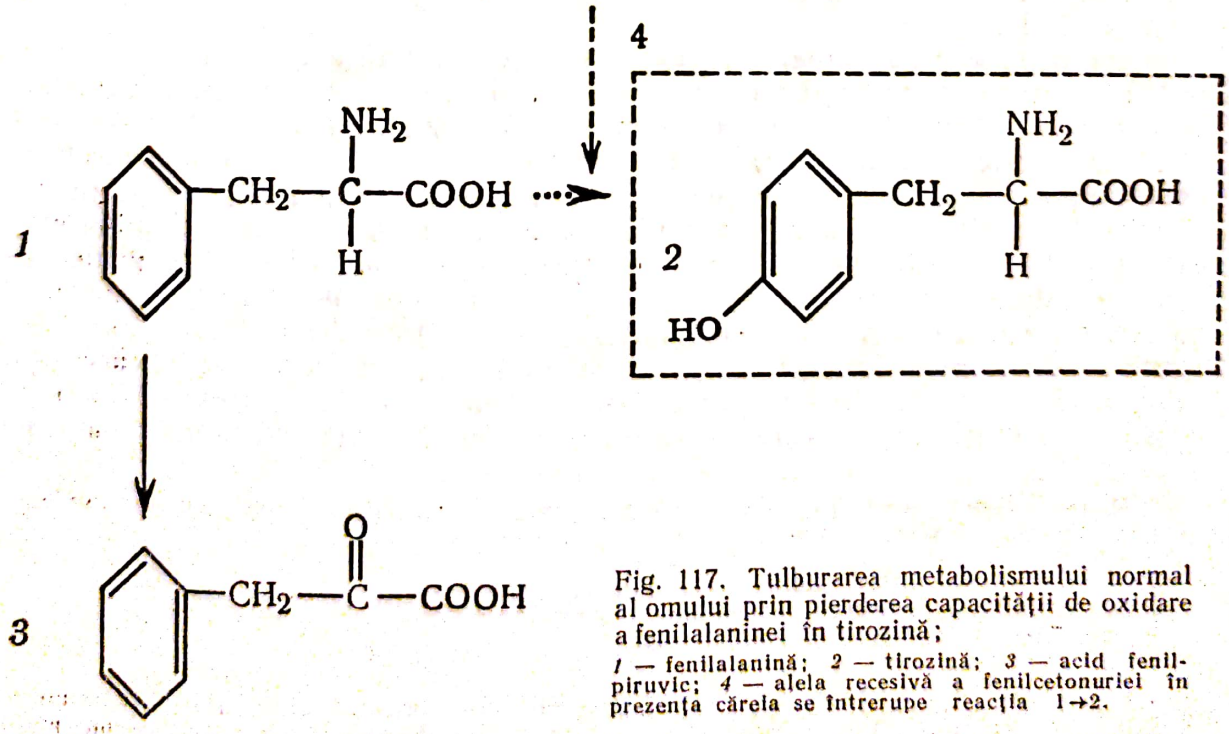


Fig. 117. Tulburarea metabolismului normal al omului prin pierderea capacității de oxidare a fenilalaninei în tirozină;

1 — fenilalanină; *2* — tirozină; *3* — acid fenilpiruvic; *4* — alela recesivă a fenilcetonuriei în prezența căreia se întrerupe reacția 1→2.

* Vezi nota de la pag. 12.

Scanned with OKEN Scanner

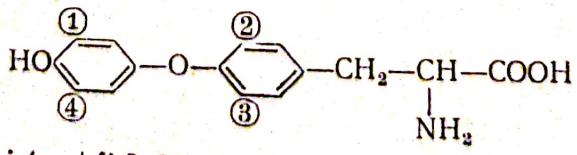
Fig. 118. Eritrocite falciforme în sîngele omului.

fenilalaninei și tirozinei. Ca urmare apar boli ereditare, ca tirozinoza, albinismul și altele.

În numeroase cazuri, pierderea capacității de sinteză a unei anumite enzime sub influența unei mutații recesive duce la tulburarea sintezei unuia dintre hormonii necesari dezvoltării normale a omului. Așa de exemplu, a fost pusă în evidență tulburarea ereditară a fixării iodului pe tirozină și a transformării iodtirozinei în hormon activ*. Lipsa de iod duce la tulburări în funcționarea glandei tiroide, la apariția gușii și cretinismului. În același mod se prezintă și tulburările ereditare ale funcției hormonale a hipofizei, suprarenalelor și altor glande cu secreție internă. În capitolul privind mecanismul biosintezei globinei am analizat bazele moleculare ale drepanocitozei la om. În acest caz mutațiile alelei normale duc la modificări în structura moleculară a proteinei, în urma cărui fapt cristalizarea hemoglobinei mutante determină apariția eritrocitelor falciforme (fig.118). Mutația are un caracter recesiv, pentru că boala sub formă de anemie

---

* Mono- și diiodtirozina sînt aminoacizi iodați din care se sintetizează iodtironinele (hormonii glandei tiroide) cu formula generală:



în care în pozițiile 1, 2, 3 și 4 pot fi 2, 3 sau 4 atomi de iod și hormonii corespunzători sînt: diiodtironina, triiodtironina și tetraiodtironina sau tiroxina. Triiodtironina este hormonul cel mai activ dar tiroxina este hormonul secretat în cantitatea cea mai mare (90% din secreția tiroidei normale) —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

acută se manifestă numai la homozigoți. Alela mutantă își manifestă însă acțiunea și la heterozigoți. Oamenii care au această alelă în stare heterozigotă prezintă parțial eritrocite falciforme*, însă la aceștia transportul oxigenului nu este tulburat. În plus ei au rezistență crescută față de malarie, din care cauză aceste alele sînt larg răspîndite în zona mediteraneană și în alte regiuni. Transmiterea ereditară a eritrocitelor falciforme este ilustrată și prin exemplul genealogiei unei familii (fig.119). Analiza comparativă a unei hemoglobine normale și a hemoglobinei din eritrocitele falciforme făcută prin cromatografie și electroforeză arată că deosebirea dintre ele se reduce numai la înlocuirea unuia din sutele de aminoacizi (acidul glutamic) din hemoglobina normală cu valină**. La bolnavii de anemie drepanocitară homozigoți și deci cu hemoglobină-S, în care unul dintre aminoacizi este înlocuit cu altul, are loc o liză rapidă a eritrocitelor falciforme. Din această cauză hematopoeza se intensifică, splina se mărește, apar tromboze și alte stări patologice. Toate acestea determină la purtătorii homozigoți ai mutației o anemie extrem de gravă, aproape totdeauna mortală.

Tulburarea sintezei proteinelor stă la baza a numeroase tulburări ereditare de coagulare a sîngelui. După cum se știe, coagularea sîngelui este provocată de fibrinogen, o proteină cu masă moleculară de 330 000. În cazul coagulării sîngelui sub acțiunea trombinei, din molecula de fibrinogen se desprinde un peptid cu sarcină negativă, ceea ce face să scadă sarcina moleculei. Aceasta duce la polimerizarea rapidă a moleculelor de fibrinogen sub forma unui polimer cu masă moleculară de circa 5 milioane, care formează scheletul cheagului de sînge***.

Diateza hemoragică transmisă ereditar apare pe două căi. În primul rînd, ca urmare a apariției mutației recesive a alelei ce programează sinteza normală a fibrinogenului. Lipsa fibrinogenului duce la forme grave de diateză hemoragică****. În al doilea rînd, enzima activă, trombina, care determină formarea fibrinei din fibrinogen și polimerizarea ei, rezultă ca urmare a unui lung lanț de reacții, realizate prin participarea unui mare număr de proteine*****. Defectul ereditar

---

* În formele ușoare de anemie falciformă (la heterozigoți) hematiile iau formă de seceră numai cînd hemoglobina este parțial sau total neoxigenată. Anemia falciformă sau drepanocitară este o boală mai ales a negrilor și în special a celor din Africa centrală.—*N.R.*

** Vezi nota de la pag. 116.

*** Indiferent de mărimea cheagului, fibrina polimerizată realizează o macromoleculă tridimensională a cărei masă nu poate fi determinată. Cifra dată în text arată numai ordinul de mărime al masei moleculare a fibrinei polimerizate.—*N.R.*

**** Este vorba de afibrinogenemia congenitală.—*N.R.*

***** Coagularea sîngelui începe prin activarea factorului plasmatic XII (HF=factorul Hageman) și urmează formarea tromboplastinei active prin coagulare amoleculară a factorilor plasmatici XI (PTA = plasma tromboplastin antecedent), X (globulina antihemofilică C sau factorul Stuart), IX (PTC = plasma tromboplastin component sau globulina antihemofilică B sau factorul Christmas), VIII (AhG = globulina antihemofilică A) în prezența ionilor de calciu și a factorului 3 trombocitar. Formarea tromboplastinei plasmatice active reprezintă faza I sau faza tromboplastinică a coagulării.

Tromboplastina transformă protrombina în trombină. Întregul proces este autoaccelerat prin activarea factorilor VII (proconvertina) și V (proaccelerina) de către trombina care împreună cu accelerina rezultată prin activarea factorului V accelerează formarea în continuare a tromboplastinei plasmatice. Pentru timpul II al coagulării (timpul trombinic) sînt necesari ionii de calciu și factorul plachetar 1.

Trombina transformă fibrinogenul în fibrină monomer. Fibrina activează factorul XIII (FSF= factorul de stabilizare al fibrinei) care accelerează polimerizarea fibrinei în prezența ionilor de calciu și a factorului plachetar 3. Acesta este timpul III al coagulării sau timpul fibrinic.

Lipsa sau insuficiența ereditară a factorului VIII este cauza hemofiliei obișnuite. Forme mai rare de hemofilie sînt datorite lipsei factorilor IX și X (și eventual XI și XII).

Tulburările în sinteza factorilor VII, V și a protrombinei sînt rar ereditare; ele intră în categoria para- și pseudohemofiliilor. De asemenea nu toate afibrinogenemiile sînt ereditare sau congenitale; există și hipo- sau afibrinogenemii cîștigate și deci temporare.—*N.R.*

al oricăreia din aceste proteine provoacă tulburarea procesului de coagulare a sîngelui. Ca urmare, un mare număr de mutaţii, atît dintre cele legate de sex, cît şi dintre cele autosomale, sînt cauza unor diateze hemoragice ereditare. O parte a acestor mutaţii este localizată în cromosomii sexuali şi de aceea se moşteneşte ca un caracter legat de sex.

Tot la om, o serie de mutaţii sînt legate de modificarea proprietăţilor antigenice ale proteinelor sîngelui. După proprietăţile sîngelui oamenii se împart în diferite grupe. Dacă vom amesteca globulele roşii de la o grupă cu serul de la altă grupă, vom constata că în eprubetă se formează mari conglomerate de eritrocite care se depun la fund. Se produce aşa-zisa aglutinare, care indică incompatibilitatea grupelor sanguine. Această aglutinare poate fi mortală în cazul transfuziei de sînge de la un om cu o grupă de sînge incompatibilă. Am văzut că aglutinarea cere prezenţa a doi participanţi la reacţie, şi anume a eritrocitelor unei grupe de sînge şi a serului altei grupe. Este ştiut că serul sîngelui se caracterizează prin prezenţa de anticorpi. Reacţia cu anticorpi cere prezenţa de antigeni, care de obicei sînt componenţi caracteristici ai celulelor. Prezenţa reacţiei anticorp-antigen în fenomenele de aglutinare este demonstrată de următoarele fapte. Să încercăm să amestecăm eritrocitele şi serurile grupelor sanguine *A* şi *B* în feluri te combinaţii. Este firesc ca eritrocitele să nu aglutineze în propriul lor ser. Aglutinarea are loc numai în cazul în care eritrocitele *A* sînt introduse în serul *B* şi invers. Aceasta arată ca eritrocitele *A* conţin antigenul *A*, iar serul sanguin are anticorpi pentru antigenul *B*. La rîndul lor, eritrocitele *B* au antigenul *B*, iar serul sanguin anticorpi pentru antigenul *A*. În aceste condiţii este cu totul explicabil faptul că transfuzia *A*—*B* şi respectiv *B*—*A* dă fenomenul de aglutinare. Combinarea factorilor care determină aceşti doi antigeni duce la formarea a patru grupe sanguine la om, caracterizate prin prezenţa unui antigen (*A*) sau

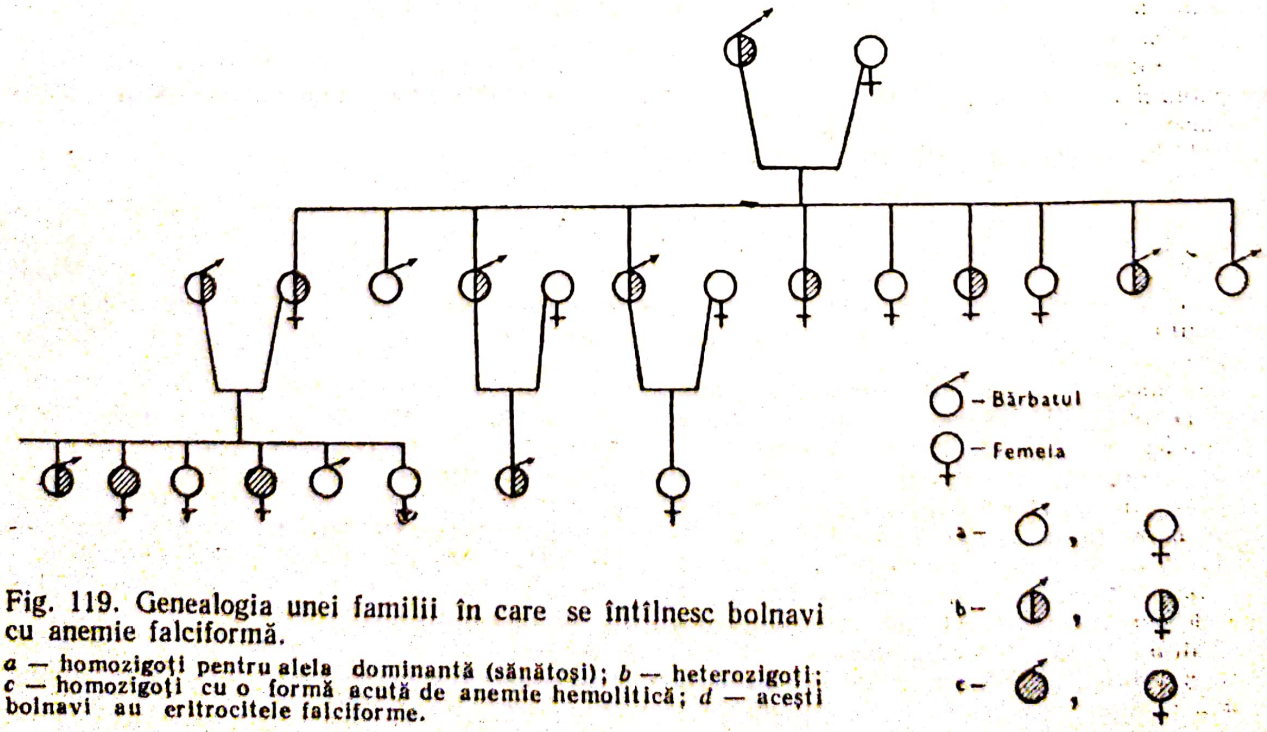


Fig. 119. Genealogia unei familii în care se întîlnesc bolnavi cu anemie falciformă.

a — homozigoţi pentru alela dominantă (sănătoşi); *b* — heterozigoţi; *c* — homozigoţi cu o formă acută de anemie hemolitică; *d* — aceşti bolnavi au eritrocitele falciforme.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

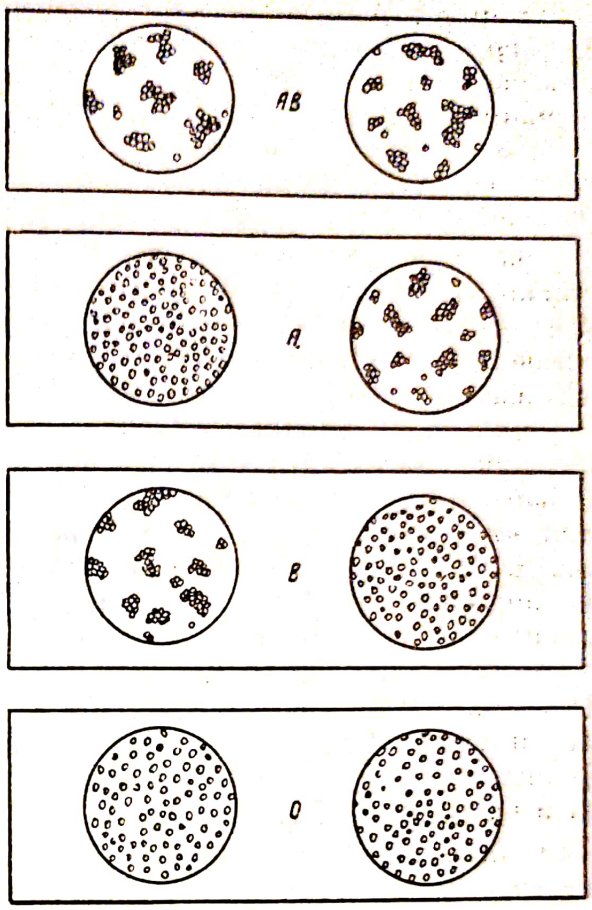


Fig. 120. Determinarea grupelor sanguine din sistemul *ABO*.

Pe fiecare lamă; în stînga, o picătură de ser-test *A* (conține aglutinine β) și în dreapta o picătură de ser-test *B* (conține aglutinine α). Pe fiecare lamă, în fiecare picătură de ser-test se află cîte o picătură de sînge necunoscut. Lipsa de aglutinare este înfățișată prin repartiția egală a eritrocitelor, iar aglutinarea se prezintă sub formă de aglomerări izolate de eritrocite. Grupa sîngelui necunoscut este indicată pe fiecare lamă.

altui antigen (*B*) sau prin prezența ambilor antigeni* (*AB*) sau prin absența lor (0). Grupa *A* are antigenul *A* și anticorpul anti-*B*. Grupa *B* conține antigenul *B* și anticorpul anti-*A*; grupa *AB* — antigenii *AB* și nu are anticorpi. Grupa 0 nu are antigeni, dar conține anticorpi anti-*A* și anti-*B*. Analiza transmiterii ereditare a acestor grupe sanguine a scos la iveală (tabelul 10, fig. 120) faptul că aceste patru grupe se bazează pe combinațiile a trei alele mutante care apar în cazul modificării uneia și aceleiași gene normale. Transmiterea ereditară a unei grupe sanguine dă la om tabloul clasic al unei serii e alele multiple, între care alelele *A* și *B* sînt dominante.

Dacă ambii părinți fac parte din grupa 0, ei nu pot da naștere la copii aparținînd primelor trei grupe. Părinții din grupa *B* nu pot avea copii cu antigen *A* și așa mai departe.

Tabelul 10

GRUPELE SANGUINE LA OM, CONDIȚIONATE DE DEOSEBIRI ÎN SERIILE DE ALELE

Genotipul	Antigenii celulari	Anticorpii serici	Grupele sanguine
AA sau *A*	*A*	anti-*B*	*A*
BB sau *B*	*B*	anti-*A*	*B*
AB	*AB*	—	*AB*
—	—	anti-*A*	*0*
—	—	anti-*B*	—

* Antigenii se numesc aglutinogene și anticorpii aglutinine. Aglutininele anti-*A* se notează cu α și aglutininele anti-*B* cu β. Cele 4 grupe sanguine din sistemul *AB0* se desemnează după aglutinogene:

Grupe = aglutinogene	aglutinine
A_1, A_2	β
B	α
A_1B, A_2B	0
0	αβ

— *N.R.*

Un interes deosebit l-a avut descoperirea unor proprietăţi antigenice deosebite în sîngele omului, care au căpătat denumirea de factorul rhesus (Rh). El a fost descoperit în cursul cercetării asemănării imunologice dintre sîngele omului şi al maimuţei, cînd s-a constatat, pe neaşteptate, că serul iepurilor imunizaţi cu eritrocite de maimuţă (*Maccacus rhesus*) dă o intensă reacţie pozitivă de aglutinare a eritrocitelor la un mare număr de oameni. S-a descoperit astfel existenţa unor persoane Rh+ (la antigen rhesus) şi Rh—. *

Analiza genetică a acestor proprietăţi a arătat că ele sînt riguros ereditare, dominantă fiind prezenţa de antigen Rh. S-a demonstrat că după transfuzia de sînge Rh+ la persoane Rh—, la acestea din urmă se formează anticorpi faţă de antigenul Rh. O însemnătate deosebită a avut-o faptul că asemenea anticorpi Rh apar la mame Rh—, care sînt pentru a doua oară însărcinate cu un făt Rh+. În căsătoria în care tatăl este Rh+, iar mama Rh— embrionul poate fi Rh+. În prima sarcină antigenul Rh+ pătrunde prin placentă în circulaţia sanguină a mamei şi produce formarea în sînge a unui anticorp faţă de antigenul Rh. Totuşi embrionul nu suferă încă de pe urma acestor anticorpi, iar copilul se naşte sănătos. În cazul unei a doua sarcini tabloul se schimbă. În acest caz, anticorpii faţă de antigenul Rh al mamei pot ajunge în circulaţia sanguină a fătului Rh+ şi să intre în reacţie cu eritrocitele fătului. Sub influenţa anticorpilor, a căror formare în sîngele mamei a fost determinată de sarcina anterioară şi întărită de cea de a doua sarcină, la copil se dezvoltă o boală hemolitică gravă**. După cîteva sarcini numărul de anticorpi faţă de antigenul Rh în corpul mamei poate fi atît de mare, încît numai o totală înlocuire a sîngelui noului născut poate preîntîmpina moartea acestuia (fig. 121).

În afară de tulburările metabolismului şi ale unor biosinteze, omul poate prezenta încă multe alte modificări ce se transmit pe cale ereditară. De exemplu, este bine studiată luxaţia congenitală a femurului care se datoreşte insuficientei dezvoltări a cavităţii cotiloide***. Acest defect se transmite ca un caracter dominant.

Subţierea pielii palmei şi a călcîiului se transmite, de asemenea, ca un caracter dominant; ea duce la formarea de fisuri cu o adîncime pînă la 1 cm, însoţite adesea de cangrena degetelor.

---

* Sînt şase antigeni Rh: C, D, E, c, d, e şi corespunzător 6 alele în genom, cîte trei pe fiecare garnitură de cromosomi şi toate cu caracter dominant. Din această cauză combinaţiile homo- şi heterozigote sînt foarte numeroase:

Homozigoţi: $\frac{CDE}{CDE}, \frac{CDe}{CDe}, \frac{CdE}{CdE}, \frac{cDE}{cDE}, \frac{cdE}{cdE}, \frac{cDe}{cDe}, \frac{Cde}{Cde}, \frac{cde}{cde}$

Heterozigoţi: $\frac{CDE}{cde}, \frac{CDe}{cde}, \frac{CdE}{cde}, \frac{cDE}{cde}, \frac{cdE}{cde}, \frac{cDe}{cde}, \frac{Cde}{cde}, \frac{cDe}{Cde}$ etc.

Din punct de vedere genetic, toţi oamenii sînt Rh+, avînd între trei şi şase antigeni. 85% dintre oameni au antigenul D şi se comportă din punct de vedere practic ca Rh+ şi 15% nu-l au şi se comportă ca Rh—, din cauză că antigenul D are cea mai mare capacitate de a determina producerea de anticorpi în cantitate mare, şi deci el este cauza cea mai frecventă a accidentelor şi a patologiei legate de sistemul Rh. — *N.R.*

** Anemia hemolitică este parţial compensată de o intensă hematopoeză, cu apariţie de eritroblaşti în sîngele fătului. Din această cauză boala poartă numele de eritroblastoza nou-născuţilor, vindecabilă prin exsanguino-transfuzie. — *N.R.*

*** Este vorba de cavitatea coxalului cu care se articulează capul femurului. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

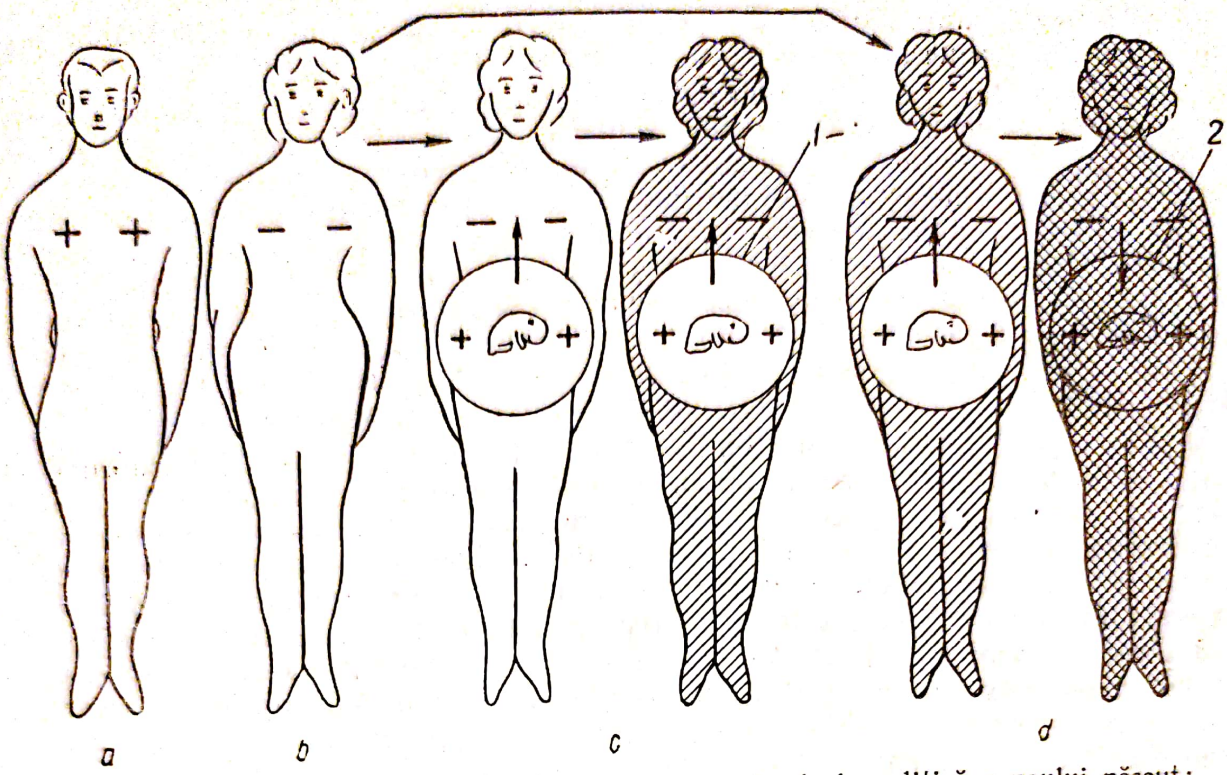


Fig. 121. Transmiterea ereditară a factorului Rh la om și boala hemolitică a noului născut; *a* — tatăl — purtător al factorului Rh +; *b* — mama — Rh —; *c* — prima sarcină, antigenul Rh + pătrunde în circulația sanguină maternă și determină formarea de anticorpi Rh (linii oblice) al căror număr este însă insuficient și copilul se naște normal (1); *d* — a doua sarcină, mama este imunizată prin fătul Rh +, anticorpii anti — Rh pătrund de la mamă în circulația sanguină a fătului și intră în reacție cu celulele sanguine Rh + ale fătului. Se produce o eritroblastoză și fătul moare (2).

După cum se știe, hipertensiunea se manifestă prin ridicarea presiunii sîngelui. Analiza statistică a arătat că din 485 de bolnavi de hipertensiune, la 131 ambii părinți au fost bolnavi de hipertensiune, la 349 — un părinte și numai la cinci bolnavi ambii părinți au fost sănătoși. Aceasta arată că hipertensiunea se concentrează în anumite familii și are tendințe să apară la copiii cu părinți bolnavi. Un rezultat similar s-a obținut prin cercetarea unor gemeni univitelini. Din șapte perechi de gemeni univitelini studiate, șase perechi erau bolnave de hipertensiune, la o pereche — unul din gemeni era bolnav, iar celălalt sănătos.

Extrem de interesante sînt rezultatele obținute în urma studierii geneticii epilepsiei. Urmărirea unui mare număr de generații arată rolul eredității în transmiterea epilepsiei. Frecvența acestui factor ereditar este destul de mare, ajungînd pînă la 13—14%. Îmbolnăvirea însă se manifestă numai la o treime din homozigoți. Predispoziția ereditară la epilepsie este accentuată de influența mediului și pe primul plan se află traumatismele și infecțiile. În stare heterozigotă, alela epilepsiei duce la dezvoltarea stărilor epileptoide și în special a migrenei. La epileptici au loc modificări caracteristice în ritmul bioelectric al creierului. Studiul electroencefalografic al familiilor cu tare epileptice a arătat că la numeroși membri ai unor asemenea familii care nu manifestă nici un fel de semne de epilepsie au fost totuși înregistrate modificări ale ritmului bioelectric al creierului. În studiul electroencefalografic al unor perechi de gemeni univitelini, dintre care unul era

epileptic iar celălalt sănătos, au fost puse în evidență la toți gemenii sănătoși modificările caracteristice ale ritmului bioelectric al creierului.

Larga răspîndire a bolilor ereditare la om pune problema tratării lor ținîndu-se seama de datele eredității. Se cunosc multe cazuri de tratament reușit al unor boli ereditare. Este îndeobște cunoscut tratamentul reușit al diabetului zaharat ereditar prin introducerea în organismul bolnavului a insulinei, al mixedemului ereditar prin injectarea hormonilor tiroidieni și al eritroblastozei ce apare în cazul incompatibilității sîngelui mamei și a fătului după factorul Rh prin transfuzie de sînge. În ultimul caz, cunoașterea geneticii factorului Rh a făcut cu putință să se planifice din timp și să se realizeze transfuzia de sînge, care în zilele noastre salvează 98% din noii-născuți, din mame cu incompatibilitate a fătului prin factorul Rh și care înainte mureau de pe urma unei eritroblastoze grave.

Am arătat mai înainte că din fenilalanină se formează tirozina. În transformările survenite ulterior, tirozina dă melanina, oxidîndu-se parțial, cu formare de apă și CO_2. În prezența genei fenilcetonuriei are loc o tulburare a transformării fenilaninei în tirozină: în urină apare acidul fenilpiruvic. Din punct de vedere clinic, tulburarea metabolismului duce la leziuni extrapiramidale, la idioție, imbecilitate sau debilitate mintală. Frecvența bolnavilor este de circa $4 \cdot 10^{-5}$. Gena albinismului nu asigură trecerea dioxifenilalaninei* în melanină. În cazul prezenței genei tirozinozei nu are loc oxidarea acidului oxifenilpiruvic, care se elimină prin urină. Expresia clinică este miastenia gravă. În sfîrșit, înlocuirea unei gene normale cu gena alcaptonuriei oprește metabolismul la nivelul acidului homogentisic, care nu se oxidează pînă la CO_2 și H_2O. Acidul homogentisic** este eliminat prin urină, care în contact cu aerul își schimbă rapid culoarea în brun. În jurul vîrstei de 40 de ani, datorită depunerii acidului homogentisic în cartilagiile articulațiilor, se dezvoltă fenomene pseudoreumatice.

Introducerea unor substanțe care să asigure evoluția normală a biosintezei ar duce și în aceste cazuri la vindecare.

S-a stabilit că la un bolnav de hipertensiune părinții, frații, surorile și copiii săi au o tensiune arterială de obicei mărită față de normal cu 20—25% din depășirea înregistrată la bolnav. Astfel tendința la hipertensiune este în mare măsură condiționată ereditar. Pe de altă parte, ateroscleroza se dezvoltă de obicei simultan cu prezența îndelungată a unei tensiuni mărite și a unui procent constant ridicat de colesterol în sînge, fenomen condiționat de o anomalie ereditară dominantă a metabolismului. Analiza genetică permite depistarea persoanelor care prezintă simultan ambele anomalii ereditare: hipertensiunea și hipercolesterolemie. Aceasta face cu putință aplicarea din timp a unei profilaxii individuale a ateriosclerozei, cu mult înainte de dezvoltarea simptomelor clinice. De o mare valoare este cunoașterea marii labilități a tensiunii arteriale în perioada inițială a dezvoltării hipertensiunii***. În prezent dispunem de date cu privire la prevenirea

---

* Dioxifenilalanina (sau prescurtat DOPA) rezultă din oxidarea tirozinei (oxifenilalanina). DOPA este precursorul melaninei.— *N.R.*

** Acidul homogentisic este un metabolit intermediar în oxidarea tirozinei. Boala se numește alcaptonurie (se referă la culoarea brună pe care o ia urina care conține acid homogentisic). Depunerea acidului homogentisic în cartilagiile articulațiilor determină colorarea lor în brun (ocronoza). —*N.R.*

*** Hipertensiunea arterială poate avea foarte multe cauze și nu se poate spune cu siguranță, în fiecare caz în parte, care este rolul eredității și nici al colesterolului. —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

cu succes a bolii hipertonice, care în trecutul nu prea îndepărtat ducea, în majoritatea cazurilor, la invaliditate și moarte.

Cu toate că sînt cunoscute multe exemple cu privire la rolul hotărîtor al unui singur factor ereditar în apariția stărilor patologice, în marea majoritate a cazurilor predispoziția ereditară se realizează numai cînd intervine și un factor extern suplimentar. Slăbirea înnăscută a reflexelor tendinoase, o anomalie ereditară dominantă subclinică, în cazul avitaminozei E și al altor factori poate evolua într-o scleroză amiotrofică laterală, a cărei dezvoltare la purtători poate fi preîntîmpinată prin înlăturarea factorilor care o provoacă.

Asemenea gene ca cea a anemiei falciforme, factorului Rh, a surdomutității, a orbirii și a numeroase boli de piele determină o mortalitate timpurie sau dezvoltarea unor procese patologice la milioane de copii. Paralel cu aceste procese sînt însă cunoscute și aspecte patologice mai puțin grave la sute de milioane de oameni, determinate de mutațiile a sute de mii de gene ce exercită o influență slabă și care nici pe departe nu se realizează întotdeauna și nu provoacă îmbolnăviri*. Genetica clinică începe să stăpînească o serie de mijloace de combatere a răspîndirii și dezvoltării unor predispoziții ereditare concrete spre diferite stări patologice.

Stabilirea la un bolnav a prezenței unei porfirii ereditare și efectuarea unor analize speciale înlătură necesitatea operației în cazul unor intense dureri gastrice și face posibilă evitarea folosirii unor substanțe ce produc accesul. În literatură se descriu bolnavi de porfirie ereditară cărora li s-a făcut de mai multe ori laparatomie absolut contraindicată.

Medicația în genetica clinică este strict individuală. Existența unei predispoziții familiare spre hipertonie arată că trebuie să se măsoare cît mai des tensiunea arterială și să se dozeze colesterolul în sînge, aceasta înlesnind mutarea din timp la o muncă mai ușoară și trecerea la dietă și la un regim adecvat de viață. Rudelor bolnavilor de icter hemolitic, care prezintă unele simptome ale acestor boli (microsferocitoză, rezistență scăzută a eritrocitelor în soluții hipotonice), li se poate indica și face splenectomie profilactică.

Am citat mai sus date din care rezultă că în manifestarea predispoziției ereditare la epilepsie un rol important îl au factorii de mediu. Îndepărtarea acțiunii lor dăunătoare are ca rezultat reducerea numărului acceselor de epilepsie.

În prezent, hemofilia, care înainte era adesea mortală, poate fi tratată cu succes. Diferitele forme ale acestei boli au la bază lipsa unor factori necesari coagulării sîngelui, ceea ce determină hemoragii de durată la cea mai mică leziune**. Introducerea substanțelor adecvate în organism restabilește capacitatea sîngelui de a se coagula normal. Așadar, descoperirea caracterului ereditar al unei boli nu are doar importanță teoretică pentru că bolnavul ar fi condamnat la moarte. Dimpotrivă, cunoașterea faptului că în familie există o predispoziție ereditară spre o anumită boală va permite să se prevină din timp dezvoltarea ei sau să se ia măsuri pentru vindecarea ei.

Luate în ansamblu, datele cu privire la genetica umană arată existența unei imense variabilități biologice ereditare. O statistică amplă arată că aproape 4% din nou-născuți sînt într-un fel sau altul purtători ai unor modificări ereditare pato-

---

* Numeroase anomalii sau tulburări cu care copiii se nasc sînt datorite nu numai unei ereditățipatologice ci și unor cauze care tulbură dezvoltarea embrionară și fetală intrauterină. Adesea e nevoie de o minuțioasă anchetă pentru a preciza dacă e vorba de o tulburare ereditară sau numai congenitală. Așa de exemplu, s-a stabilit că un mare număr de malformații sînt datorite infestării intrauterine a embrionului cu virusul rubeolei dacă mama se îmbolnăvește de această boală în primele două luni de sarcină.—*N.R.*

** Vezi nota de la pag. 197.

Scanned with OKEN Scanner

logice. Aceste modificări ereditare sînt rezultatul apariţiei unor mutaţii dominante, semidominante sau recesive atît în cromosomii autosomali cît şi în cromosomii sexuali. O parte a îmbolnăvirilor grave apar ca urmare a nondisjuncţiei cromosomilor şi prezenţei unor mutaţii structurale cromosomiale.

S-a arătat că la om, după tipul autosom-dominant, se moştenesc unele forme de cecitate înnăscută, acondroplazia* (nanism), atrofia nervilor acustici, polipoza intestinului gros, absenţa incisivilor superiori laterali, o şuviţă albă de păr şi multe alte particularităţi. Dintre bolile autosom-recesive sînt cunoscute: albinismul, surdomutitatea, numeroase forme de debilitate mintală, fenilcetonuria şi alte tulburări. Dintre caracterele recesive dependente de sex au fost descrise: hemofilia, daltonismul şi alte tulburări.

Cauza apariţiei tulburărilor ereditare la om o constituie mutaţiile noi care apar în permanenţă în diversele locusuri ale cromosomilor. Bolile grave sînt supuse unei selecţii naturale negative, dat fiind că oamenii cu asemenea boli fie că au copii puţini, fie că nu au de loc. În prezent, pentru unele mutaţii la om s-a studiat frecvenţa apariţiei lor în diverse populaţii. De exemplu, este ştiut că din cinci acondroplazici (nanism dominant), din cauza marii lor mortalităţi şi a slabei fecundităţi, în medie numai unul lasă un urmaş — un acondroplazic.

În Danemarca, un acondroplazic revine la 9 400 locuitori. Se poate calcula că frecvenţa mutaţiilor acondroplazice într-o generaţie este egală cu $45 \cdot 10^{-6}$.

Frecvenţa mutaţiilor nu este nicidecum o mărime invariabilă. Apariţia de noi mutaţii depinde de acţiunea factorilor de mediu. Astfel, numărul mutaţiilor creşte sub acţiunea radiaţiilor ionizante, care pătrund în celule şi modifică structura chimică a moleculelor de ADN. Să examinăm consecinţele unei asemenea acţiuni a radiaţiilor cînd frecvenţa mutaţiilor se dublează în comparaţie cu mutaţiile naturale, spontane. În acest caz, după trei-patru generaţii, numărul bolnavilor de acondroplazie se va dubla. Pentru Danemarca aceasta ar însemna apariţia unui acondroplazic la 4 700 locuitori.

Pentru mutaţiile autosomale recesive tabloul este diferit. Astfel, bolnavii de fenilcetonurie, adică homozigoţii acestei alele recesive, se întîlnesc în medie unul la 40 000 de oameni. În acest caz manifestarea bolii ca rezultat al mutaţiei recesive va rămîne mult timp în urma creşterii mutaţiilor. Abia după 50 de generaţii numărul bolnavilor va fi de 1,5 ori mai mare decît cel iniţial şi se va dubla abia peste o sută de generaţii**.

După cum s-a mai arătat, toate cazurile de nondisjuncţie a cromosomilor se manifestă fenotipic ca modificări dominante prezentînd imediat caracterele corespunzătoare din prima generaţie.

La om mutaţiile determină apariţia unui foarte mare număr din cele mai variate anomalii ereditare***. Sînt cunoscute peste 500 de tulburări distincte care apar

---

* Acondroplazia înseamnă osificarea timpurie a cartilagiilor de conjugare (dintre epifizele şi diafizele oaselor lungi) şi oprirea creşterii mai ales a membrelor. — *N.R.*

** O generaţie înseamnă aproximativ 30 de ani şi trei generaţii un secol.—*N.R.*

*** Diploidia asigură stabilitatea genomului pentru că de obicei o mutaţie a unei singure alele rămîne recesivă şi se elimină în generaţiile succesive. La aceasta se mai adaugă faptul că numeroase însuşiri normale ţin fiecare de mai multe gene în dublă alelă în perechi de cromosomi diferite. În acest caz chiar mutaţia mai multor alele normale nu determină şi manifestarea fenotipică decît dacă în aceleaşi perechi de cromosomi alelele omologe au aceeaşi mutaţie, ceea ce se realizează foarte greu. Consanguinitatea poate favoriza apariţia fenotipică a bolilor ereditare recesive prin creşterea probabilităţii întîlnirii de gene mutante în dublă alelă (pe cromosomii omologi în locusuri omologe), adică prin întîlnirea în acelaşi zigot de garnituri haploide cu mutaţii identice provenite de la ambii părinţi. Din această cauză căsătoriile între rude, chiar îndepărtate, în familiile în care există boli ereditare, nu sînt de dorit nici cînd gradul de rudenie permite căsătoria legală.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

la om ca urmare a modificărilor structurilor sale ereditare. Sînt de asemenea foarte numeroase manifestările patologice legate de diferite mutații ale structurilor moleculare din cromosomii omului. Clasificarea generală a bolilor ereditare ale omului ar fi următoarea: în prima grupă de defecte ereditare pot fi incluse bolile a căror cauză rezidă în tulburarea diferitelor structuri moleculare care sînt cauza mai departe a tulburării metabolismului normal. Exemplu clasic de asemenea boală ereditară „moleculară" la om este anemia falciformă. A doua grupă de îmbolnăviri ereditare o constituie bolile „cromosomice". Am dat mai sus exemple de alterarea structurii cromosomilor, stabilită cu precizie la microscop, care este cauza unei anumite bcli ereditare. A treia grupă de boli ereditare o formează bolile „biochimice", apărute ca urmare a mutațiilor care tulbură diferite procese metabolice. Din această categorie face parte fenilcetonuria și alte boli determinate de mutații ale genelor care determină o insuficiență biochimică prin legătura genă-enzimă, genă-proteină etc. A patra categorie de boli ereditare la om o formează bolile morfogenetice. Aceste boli se manifestă în cazul în care mutația tulbură dezvoltarea morfologică a individului. Pentru că orice modificare de comportament ca și apariția tulburărilor psihice și a altor tulburări sînt legate de anumite elemente materiale structurale ale organismului uman, rezută că această categorie de mutații poate fi inclusă în bolile ereditare morfofenogenetice. Fenogenetica este știința care studiază formarea și dezvoltarea organismului și proprietăților sale în funcție de condițiile mediului extern. Morfogenetica studiază formarea caracteristicilor morfologice și structurale ale individului. Revenind la problema antecedentelor patologice ereditare generale ale omului ca urmare a răspîndirii în populațiile umane a diferite mutații, vedem că numai bolile ereditare bine conturate ating peste 4% din nou-născuți. Acțiunea radiațiilor și a factorilor chimici mutageni determină mărirea numărului mutațiilor care pot apărea. Aceasta ridică noi probleme pentru medicină, biologia omului, precum și pentru radiobiologie și radiogenetică.

BIBLIOGRAFIE

1. D. B i d l, *Ghenî celoveca i plesnevîh gribov*, v. sb. Fizica i himia jiznî, Izd-vo inostr. lit. Moskva, 1960, p. 155.
2. S. N. D a v i d e n k o v, *Evoluționno-gheneticeschie problemî v nevropatologhii*, Izd-vo A N SSSR, L, 1947.
3. V. P. E f r o i m s o n, Biohimia nasledstvennîh boleznei celoveca, J. Vsesoiuz, him. -o-va, VI, 3, 155 (1960).
4. I. I. K a n a e v., *Blizneți*, Izd-vo A N SSSR, M-L, 1960.
5. N. M. M e d v e d e v, *Ot cevo zavisit pol rebenca*, Medghiz, Moskva, 1961.
6. J. V. N e e l, W. J. S c h u l l., *Nasledstvennosti celoveca*, Izd-vo inostr. lit., Moskva, 1958.
7. V. L. R î j k o v, *Ghenetica pola*, Gosmedizdat, Moskva, 1936.
8. C. V i l l i., *Biologhia*, Izd-vo inostr. lit., M., 1959

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL II

Influenţa radiaţiilor asupra structurilor moleculare ereditare

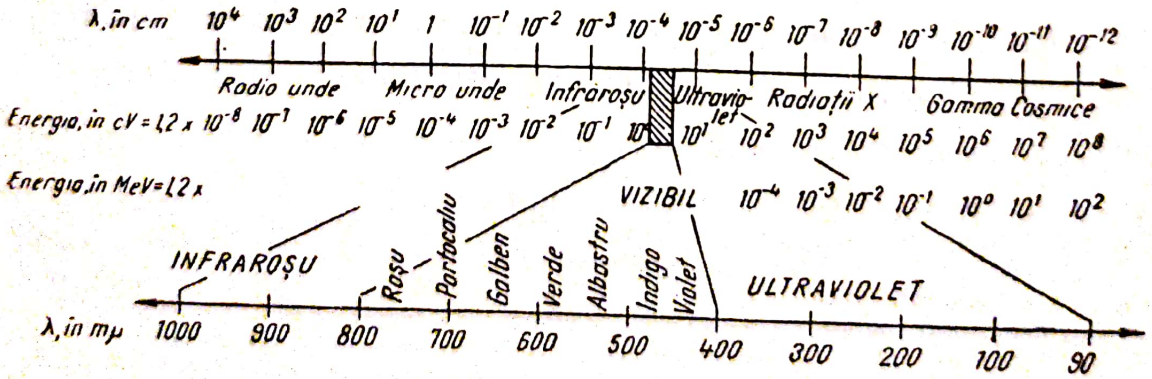
1. Schema generală a interacţiunii dintre structurile moleculare ereditare şi energia radiaţiilor

De-a lungul întregii lor evoluţii pe Pămînt, organismele vii au fost supuse acţiunii unor radiaţii de mare energie (produse ale dezintegrării nucleare), precum şi radiaţiilor ultraviolete, radiaţiilor din spectrul vizibil şi radiaţiilor infraroşii. Pentru formele actuale de viaţă, radiaţiile de energie mare au o deosebită importanţă în procesele variabilităţii ereditare *. Iradierea naturală a omului, inclusiv a gonadelor sale, de-a lungul a 30 de ani de viaţă este de aproximativ

---

* Există două mari categorii de radiaţii: radiaţiile electromagnetice sau fotonice şi radiaţiile corpusculare.

Radiaţiile electromagnetice sau fotonice au viteza luminii, adică 300 000 km pe secundă ($c = 3 \cdot 10^{10}$ cm s^{-1}) şi lungimea de undă (λ) de la cîţiva kilometri (de ordinul 10^5 cm) pînă la miimi de Ångström (de ordinul 10^{-11} — 10^{-12} cm). Cu cît lungimea de undă e mai mică, cu atît frecvenţa $\left(\nu = \frac{c}{\lambda}\right)$ este mai mare. Energia acestor radiaţii este direct proporţională cu frecvenţa: energia în ergi = $h\nu$, în care h = constanta lui Planck ($6{,}62 \cdot 10^{-27}$ erg. s).



Fotonii nu au masă de repaus. Masa lor de mişcare poate fi calculată din relaţia $m = \frac{h\nu}{c^2}$ în care m = masa în grame, $h\nu$ = energia radiaţiei în ergi şi c^2 = (viteza luminii)^2 = $9 \cdot 10^{20}$.

Radiaţiile electromagnetice formează spectre continue şi se poate vorbi de radiaţii infraroşii, luminoase, ultraviolete, etc. sau de radiaţia infraroşie, luminoasă, ultravioletă etc., înţelegîndu-se prin aceasta, atîta timp cît nu se specifică o anumită lungime de undă sau energie, spectrul de radiaţii sau domeniul infraroşu, luminos, ultraviolet etc.

Scanned with OKEN Scanner

3 *rad* *. Această iradiere provine atît din acțiunea factorilor externi, cît și a celor interni. Dintre factorii interni fac parte: radiația radonului (0,002 rad), a carbonului radioactiv C^{14} (0,001 rad) și a potasiului radioactiv —K^{40} (0,020 rad). Sursele externe cuprind radiația gamma a Pămîntului (0,043 rad), radonul din atmosferă (0,001 rad) și radiația cosmică (0,028 rad). În total omul primește într-un an 0,095 rad, iar în 30 de ani — 2,85 rad **. În epoca actuală, în care folosirea energiei atomice și aplicațiile ei în știință și tehnică se dezvoltă intens, devine

---

Radiațiile corpusculare pot fi desemnate prin aspectul lor ondulatoriu (radiații): radiația electronică (= raze electronice = raze catodice = emisie catodică), radiația protonică, radiația neutronică etc., sau prin corpusculi: electron, neutron, proton etc. Corpusculul are și masă de repaus și masă de mișcare. Viteza radiațiilor corpusculare este variabilă, dar întotdeauna inferioară vitezei radiațiilor electromagnetice, adică inferioară vitezei luminii.

* Sînt două sisteme radiometrice: sistemul roentgenologic și sistemul radiobiologic.

Sistemul roentgenologic se referă la cantitatea de ioni produsă de radiația ionizantă. Unitatea de măsură este roentgenul = r și este unitate de măsură numai pentru radiația X (roentgen) și radiația gamma pînă la energia de 3 MeV. Unitatea r este cantitatea de radiație X sau gamma capabilă să producă într-un cm^3 de aer uscat (la 760 mm Hg și la 0°C) $2{,}08 \cdot 10^9$ perechi de ioni, sau într-un gram de aer $1{,}6 \cdot 10^{12}$ perechi de ioni, pentru că 1 g de aer $\approx$ 775 cm^3:

$$2{,}08 \cdot 10^9 \times 0{,}775 \cdot 10^3 = 1{,}6 \cdot 10^{12}$$

Cantitatea de $2{,}08 \cdot 10^9$ ioni = 1 unitate electrostatică (μes).

Pentru formarea unei perechi de ioni în aerul uscat e nevoie de energia medie de 35 eV. 1 eV = $1{,}602 \cdot 10^{-12}$ erg și deci energia totală pentru formarea a $1{,}6 \cdot 10^{12}$ perechi de ioni este:

$$35 \times 1{,}602 \cdot 10^{-12} \times 1{,}6 \cdot 10^{12} = 90 \text{ erg/g aer}$$

Se poate generaliza: 1 r = 90 erg/gram substanță.

Efectele biologice sînt dependente de cantitatea de energie absorbită în țesuturi și de aceea s-a folosit unitatea rep (*Roentgen equivalent physical*) = r/g = 90 erg/g. Dar energia absorbită este în funcție și de energia radiației incidente, astfel încît dozei de 1 r îi pot corespunde de la 0,5 la 5 rep și din această cauză, repul nu se mai folosește.

Sistemul radiobiologic. În acest sistem se ține seamă numai de energia absorbită în țesuturi. Unitatea de măsură este radul (plural razi) = 100 erg/g substanță (*Roentgen absorbed dosis*). Dar unitatea fundamentală a sistemului radiobiologic este remul (*Roentgen equivalent man*). Pentru definirea remului se introduce și o noțiune pur biologică: efectivitatea biologică relativă notată cu η (eta). Efectivitatea biologică relativă poate fi apreciată din următorul tabel:

Radiația	η	1 rem = η × x rad
Radiația X, gamma și electronică	1	1×1 rad
Neutroni încetiniți (termici)	5	5×0,2 rad
Neutroni rapizi	10	10×0,1 rad
Radiația protonică	10	10×0,1 rad
Radiația alfa	10	20×0,05 rad

După normele de protecție a muncii din Republica Socialistă România, doza maximă admisibilă anual este de 5 rem și, săptămînal, 0,1 rem, dar nu mai mult de 60 rem pînă la vîrsta de 30 de ani pentru lucrătorii din zonele supravegheate. Pentru populația din zonele nesupravegheate, doza anuală admisibilă este de 0,5 rem.

Dacă pentru radiațiile naturale se acceptă în general η = 1, în acest caz 1 rad = 1 rem și doza anuală este de 0,095 rad = 0,1 rem, doză cu mult inferioară celei admisibile.—*N.R.*

** Prin factori interni se înțelege radioactivitatea elementelor radioactive care se găsesc în corpul omenesc în mod incidental (ca radonul și alte elemente radioactive naturale cu masă atomică mare) sau în mod constant: carbonul radioactiv și potasiul radioactiv care se găsesc în proporții constante și definite în natură (și care sînt și singurii izotopi radioactivi naturali ușori).

Elementele și izotopii lor stabili sau radioactivi se desenează prin simbol, număr de ordine așezat înaintea simbolului sau după simbol, jos și numărul de masă așezat după simbol, sus. Numărul de ordine (în tabloul periodic al elementelor) = număr de protoni = număr de electroni. Numărul de masă = suma protonilor și neutronilor nucleari. Numărul de masă — numărul de ordine = număr de neutroni. De exemplu $6C^{12}$ sau C^{12}_{6}, în care C = simbol (carbon), 6 = număr de ordine, 12 = număr de masă și 12—6 = 6 protoni.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

din ce în ce mai acută problema cunoașterii efectului radiațiilor asupra organismului și ereditații lui, ca și a elaborării de măsuri de apărare împotriva bolii actinice.

Efectul iradierii asupra celulei vii poate fi înțeles numai prin lămurirea esenței fenomenelor care stau la baza interacțiunii dintre energia radiațiilor pătrunse în celulă și componentele celulare. Cuanta de energie care pătrunde în celulă reacționează cu atomii și moleculele acesteia. Această interacțiune fizică duce la apariția unor procese radiochimice care au ca rezultat modificarea însușirilor biochimice și apoi și a celor biologice ale celulei.

Radiațiile de mare energie, ca cele electromagnetice sub forma de radiație gamma și Roentgen, cît și radiațiile nucleare corpusculare sub formă de protoni, neutroni și altele au căpătat denumirea de radiații ionizante *, datorită capacității lor de a provoca apariția unor perechi de ioni într-un mediu absorbant. În afară de aceasta, ele determină în măsură variabilă și stări de excitație a moleculelor.

Cuanta de energie a radiației electromagnetice sau particula încărcată smulge un electron din învelișul exterior al atomului sau moleculei. Pierzînd un electron, o astfel de moleculă sau atom devine un ion încărcat pozitiv. Electronul care s-a desprins are sarcină negativă; alăturîndu-se unui alt atom sau altei molecule, el determină apariția unui ion negativ. Apar astfel perechi de ioni. Pentru desprinderea unui electron se cheltuiește numai o parte din energia cuantei sau a particulei încărcate. De aceea, pe toată distanța străbătută (parcurs) de cuantă sau de particulă apar perechi de ioni. Trecînd prin interiorul celulei, ele se ciocnesc cu moleculele și atomii acesteia, consumîndu-și treptat energia pentru ionizare și excitație. Aceasta este cauza încetinirii progresive a vitezei lor de mișcare. Paralel cu formarea perechilor de ioni, fiecăreia dintre cuante sau particule îi revin cîte doi-trei atomi sau molecule excitate.

Starea de excitație este legată de mutarea electronilor pe învelișurile atomilor. Absorbind energie, electronul sare de pe o orbită mai apropiată pe una mai îndepărtată. În cazul revenirii electronului de pe o orbită mai îndepărtată pe una mai apropiată, energia cheltuită anterior pentru excitare este acum iradiată sub formă de fotoni de radiație Roentgen, ultravioletă sau luminoasă **.

Astfel, procesele fizice primare determinate de pătrunderea radiațiilor în celulă sînt legate de absorbția de energie de către componentele acesteia, ducînd la ionizarea și excitarea atomilor și moleculelor lor.

---

* Dacă energia radiației incidente este egală sau mai mică decît energia de ionizare, radiația este absorbită. Acesta este cazul pentru radiațiile de energie mică, cum ar fi radiațiile din spectrul vizibil (cu energii cuprinse între 1,7 și 3,1 eV).

Radiațiile ionizante sînt cele care au energii de ordinul miilor și milioanelor de eV pînă la zeci, sute și mii de MeV (1 MeV = 10^6 eV).—*N.R.*

** Orbitele atomice sau nivelurile de energie atomice sînt dinspre nucleu spre exterior: *K*, *L*, *M*, *N*, *O*, *P* și *Q*. Toate deplasările electronilor de pe un nivel de energie pe nivelurile exterioare se fac cu absorbție de energie (starea de excitație sau ionizare) și revenirile cu emisiune de radiații. Revenirile pe același nivel determină emisiunea unei serii de radiații: seria *K*, *L*, *M*, *N* etc. Pentru același atom, energia seriilor este: $K > L > L > M > N$ etc. Seria *K* a fiecărui element are energia cea mai mare. De la hidrogen la uraniu, seriile *K*, *L*, *M*, *N* etc. au energii cu atît mai mari cu cît masa nucleului (și a atomului) este mai mare. Astfel, seria *K* a hidrogenului se plasează în ultravioletul apropiat, seria *L* în vizibil și seriile *M* și *N* în infraroșu. Seriile *K* ale elementelor pînă la O_8^{16} se plasează în ultravioletul din ce în ce mai îndepărtat (lungimi de undă din ce în ce mai mici și energii din ce în ce mai mari) și începînd cu oxigenul, seria *K* este radiație Roentgen, iar pentru elementele următoare, seriile K sînt radiații Roentgen din ce în ce mai dure. Seriile *L* trec din vizibil (hidrogen) în ultraviolet și apoi în Roentgen (începînd cu elementul 32—germaniu). Seriile *M* trec din infraroșu (hidrogen) treptat în vizibil, ultraviolet și devin radiații Roentgen începînd cu lantanidele (elementele 58—71). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

În urma ionizării și excitării se produc modificări chimice ale substanțelor care au absorbit energia radiațiilor ionizante. Care sînt deci substanțele celulare care absorb energia radiațiilor ionizante? Trebuie să se țină seama de faptul că absorbția energiei radiațiilor ionizante nu depinde de compoziția chimică a substanței absorbante. Cantități ponderal egale de substanță din compoziția organismului absorb, la o anumită doză de radiație, o cantitate egală de energie. De aci se poate deduce că o cantitate deosebit de mare de energie este absorbită în celulă de componentele care ocupă cea mai mare parte din volumul ei. Se știe că majoritatea organismelor vii au în compoziția lor un mare procent de apă. La om și la mamifere, el ajunge pînă la 85% din greutatea corpului. Astfel, energia radiațiilor ionizante pătrunse în organism este absorbită, în esență, de moleculele de apă. Absorbind energia radiațiilor ionizante, molecula de apă pierde un electron și se transformă în ion pozitiv.

$$H_2O \xrightarrow{\text{radiație ionizantă}} H_2O^+ + e^-.$$

Electronul este captat de o altă moleculă de apă care se transformă într-un ion de apă negativ:

$$H_2O + e^- \rightarrow H_2O^-.$$

Ionii care se formează sînt instabili; ei se descompun imediat dînd naștere la doi radicali liberi, și anume: hidrogen ($H^\cdot$) și oxidril ($OH^\cdot$) și doi ioni stabili (H^+ și OH^-), care, recombinîndu-se, dau molecula de apă *:

$$H_2O^+ \rightarrow H^+ + OH^\cdot$$

$$H_2O^- \rightarrow OH^- + H^\cdot$$

$$H^+ + OH^- \rightarrow H_2O.$$

Totuși, radioliza apei, luată ca atare, nu poate avea un efect biologic. Radicalii liberi trec și ei printr-un proces de recombinare formînd apă, hidrogen molecular sau apă oxigenată.

$$H^\cdot + OH^\cdot \rightarrow H_2O$$

$$H^\cdot + H^\cdot \rightarrow H_2$$

$$OH^\cdot + OH^\cdot \rightarrow H_2O_2.$$

În aceste condiții apa oxigenată din celule se descompune rapid în apă și oxigen sub acțiunea unei enzime active: catalaza.

Radioliza apei ** poate avea un efect biologic numai în cazul cînd radicalii liberi ($H^\cdot$ și $OH^\cdot$), apa oxigenată (H_2O_2) și alți oxizi organici care se formează în acest caz intră în reacție și modifică din punct de vedere chimic structura normală a acestor macromolecule care au importanță esențială pentru celule.

---

* Prin radical liber se înțelege o moleculă incompletă, fără un atom de hidrogen și dar *fără sarcină electrică*. Fiind molecule cu o valență nesatisfăcută, radicalii liberi sînt foarte reactivi și viața lor foarte scurtă. Hidrogenul trecut ca radical liber ($H^\cdot$) este în realitate hidrogen atomic, mai reactiv decît hidrogenul molecular (H_2). — *N.R.*

** În medie, din 100 de atomi din celulă, numai 15 — 20 sînt atomi ai moleculelor organice, restul sînt atomii de hidrogen și de oxigen ai apei. Probabilitatea de a fi întîlnit un atom al unei molecule organice este de 5 — 6 ori mai mică decît probabilitatea întîlnirii unui atom de hidrogen sau de oxigen al apei. — N.R.

Scanned with OKEN Scanner

Asemenea macromolecule sînt în primul rînd proteinele (enzimele) și acizii nucleici.

Or, aceste macromolecule din interiorul celulei pot fi ele însele supuse în mod direct acțiunii energiei radiante. Atunci, ca urmare a acțiunii directe a radiației, moleculele de proteine și acizi nucleici vor suferi modificări profunde sub formă de ionizare sau excitație.

Energia necesară pentru dezechilibrarea sistemului biologic este foarte mică. Ca urmare a modificărilor chimice, funcția biologică a macromoleculelor este alterată prin afectarea diferiților ei atomi.

În fața teoriei radiobiologiei se pune următoarea problemă importantă: care este mecanismul de alterare a proteinelor și acizilor nucleici din celulă? Oare cauza alterării prin radioliză a acestor molecule este o acțiune directă, care se manifestă prin apariția unor fenomene primare sub formă de ionizare și excitare moleculară, sau aici are loc o acțiune indirectă a radiației, moleculele fiind alterate de radicalii liberi și peroxizii apăruți ca urmare a radiolizei apei? Posibilitatea acțiunii directe este limitată de numărul relativ mic de macromolecule, de aceea probabilitatea ca ele să absoarbă energia radiațiilor care pătrund în celulă este relativ mică. Pe de altă parte, eficiența radicalilor liberi care apar prin radioliza apei este limitată de timpul scurt de existență a acestor radicali. Ei trăiesc numai $2 \cdot 10^{-7}$ s. În acest răstimp radicalii parcurg o distanță de 30—50 Å. Față de celulă ca întreg și chiar față de spațiile care înconjură cromosomul, această distanță este relativ mică, ceea ce arată limpede că sfera de aplicație a acțiunii directe și indirecte a radiațiilor este, după cum se pare, în multe privințe limitată. Probabil că pentru substanțele uscate se poate realiza numai o acțiune directă a radiației. În soluțiile cu o mare concentrație a moleculelor substanței studiate, greutatea specifică a acțiunii directe este destul de însemnată. O dată cu scăderea concentrației moleculelor crește rolul acțiunii indirecte a radiațiilor, care capătă o mare însemnătate pentru soluțiile cu concentrație redusă de molecule. Aceste importante teze ale teoriei radiobiologice contemporane au fost confirmate în prezent pe baza a numeroase experiențe.

Pentru a analiza problema acțiunii radiațiilor asupra eredității cel mai important lucru este să se stabilească modul de interacțiune dintre energia radiantă și cromosomi. După cum se știe, în cromosomi concentrația de ADN este de 10—20%, ADN-ul aflîndu-se în stare solidă. Aceasta arată că acțiunea radicalilor liberi are în acest caz un efect limitat. O analiză directă a acestei probleme s-a făcut în experiențele privitoare la folosirea protecției chimice diferențiate a cromosomilor asupra acțiunii directe și indirecte a radiațiilor. S-a dovedit că ionii de iod și de brom protejează moleculele de ADN de radiații în cazul unei concentrații mici a acestora în soluție. Ionii de iod și de brom interceptează radicalii liberi care apar în urma radiolizei apei. Însă gradul de protecție indirectă scade o dată cu creșterea concentrației moleculelor. Introducerea ionilor de iod și de brom în celula vie a arătat că acești ioni nu protejează cromosomii împotriva acțiunii radiațiilor. S-a demonstrat astfel că efectul genetic al radiațiilor este în esență legat de acțiunea directă a radiației asupra cromosomului. Desigur, lezarea cromosomilor este condiționată în parte de acțiunea radicalilor apăruți într-o zonă de 30—50 Å în jurul cromosomilor, sau de aceea a radicalilor care își transmit energia de la distanțe ceva mai mari. Totuși, numărul unor asemenea lezări este relativ redus.

În prezent, dispunem de date care arată că modificările prin iradiere ale polimerilor uscați și efectul genetic în cazul lezării cromosomilor pot fi modifi-

Scanned with OKEN Scanner

cate prin schimbarea condițiilor atît în timpul iradierii înseși, cît și după iradiere. Aceasta arată că acțiunea primară a energiei absorbite nu duce întotdeauna și nici dintr-o dată la apariția de noi structuri chimice în cromosomi sau la ruperea cromosomului care să provoace apariția unor restructurări cromosomice. Acțiunea primară determină în cromosom declanșarea unui lanț de fenomene radiochimice. Aceste procese secundare se pot încheia prin lezarea cromosomului, dar și prin restabilirea structurii inițiale. Apariția de modificări chimice primare în diferite locuri care formează baza mutațiilor genelor, ca și modificările care duc la ruperea filamentului cromosomic au inițial un caracter potențial. Numai după un lanț de reacții care pentru a fi realizate necesită condiții adecvate, modificarea potențială primară din cromosomi se încheie cu apariția unor mutații efective. Menținîndu-se un timp oarecare, atunci cînd condițiile împiedică realizarea lor, modificările potențiale pot trece prin procese de transformări reversibile și, ca urmare, se restabilesc structurile inițiale ale cromosomilor.

Teoria acțiunii indirecte a radiațiilor pe baza radiochimiei soluțiilor și a apei are o foarte mare însemnătate în cazul analizei lezării multor substanțe citoplasmatice. Citoplasma are o uriașă însemnătate ca substrat pe baza căruia se realizează modificarea radiochimică a cromosomilor. Totuși, în analiza unor procese de alterare prin radiații a moleculelor de ADN din cromosomi trebuie să ținem seama că esențial pentru procesele de alterare primară a acestor molecule aflate sub influența radiațiilor este mecanismul acțiunii directe, care se produce prin absorbția directă a energiei radiațiilor de către moleculele de ADN aflate în cromosomi în concentrație mare și în stare solidă.

În analiza acțiunii directe a radiațiilor asupra cromosomilor trebuie să se țină seama de marea însemnătate a fenomenelor de transfer a energiei. Esența acestui fenomen, în cazul efectului radiobiologic, constă în faptul că acțiunea finală a radiației se poate desfășura nu în acel loc al structurii biologice în care s-a produs prima absorbție de energie. De transferul energiei este răspunzătoare transmiterea intermoleculară și intramoleculară a energiei. Așa de exemplu, în cazul iradierii cu radiații gamma a polimerului polietilen... $—CH_2—CH_2—$ $—CH_2—CH_2—$..., energia absorbită în orice loc al lanțului molecular migrează spre legăturile duble existente în medie cîte una pe moleculă și determină modificarea lor.

În cazul acțiunii radiațiilor ionizante asupra celulei au loc trei procese principale, sub influența cărora apar modificări în structurile biologice. Toate componentele celulare, inclusiv proteinele din citoplasmă (enzimele), materialul cromosomic (nucleoproteidele sau compușii ADN-ului cu proteinele) și moleculele de apă suferă acțiunea directă a radiațiilor care determină ionizarea și excitarea moleculelor lor.

Radioliza apei constituie o sursă pentru acțiunea indirectă a radiației, dat fiind că radicalii liberi formați pot determina afectarea atît a cromosomilor, cît și a proteinelor citoplasmatice. Prezența oxigenului dizolvat în apă duce la apariția radicalului hidroxilic oxidat HO_2 ($H + O_2 \rightarrow HO_2$); aci apar, de asemenea, apă oxigenată (H_2O_2) și hidroxizi organici stabili. Compușii peroxidați pot constitui de asemenea o cauză de alterare a macromoleculelor biologice din celulă. În sfîrșit, modificarea enzimelor (directă sau indirectă) poate duce la apariția unor metaboliți cu acțiune mutagenă. În acest caz, radiația, prin tulburarea metabolismului, va determina apariția în celulă a unor factori chimici de modificare a cromosomilor.

Scanned with OKEN Scanner

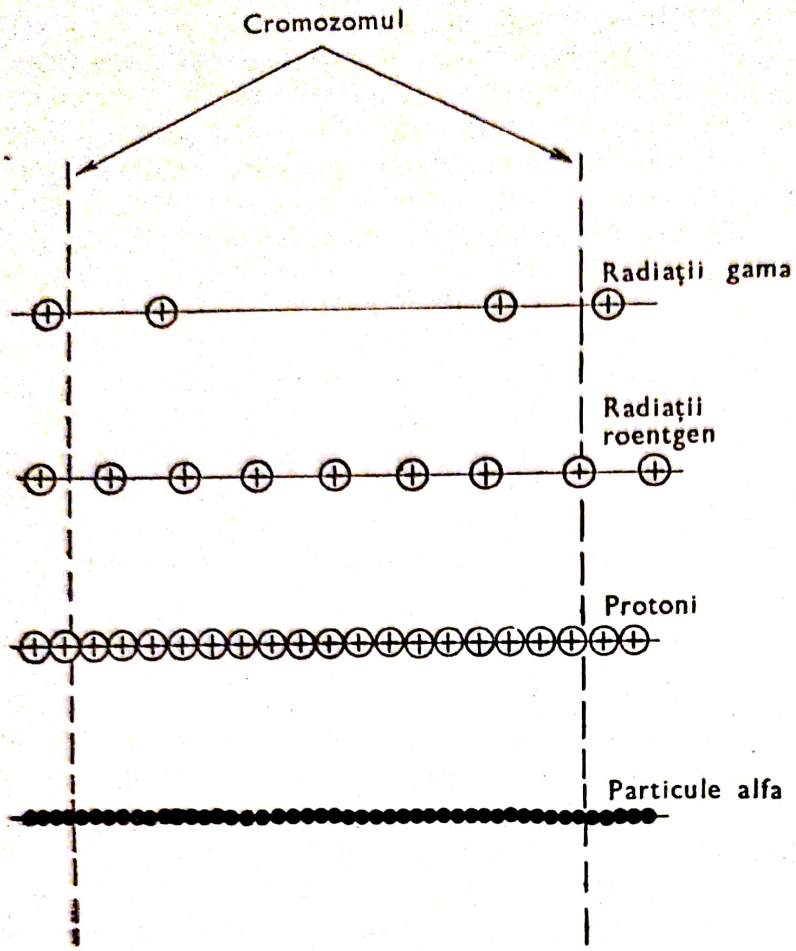


Fig. 122. Schema repartiției ionizării în cazul acțiunii asupra cromosomilor a diferitelor feluri de radiații.

În condiții naturale obișnuite se desfășoară toate aceste trei tipuri principale de acțiune a radiației asupra eredității și anume: mecanismul acțiunii directe; mecanismul acțiunii indirecte (prin intermediul radicalilor liberi) și mecanismul acțiunii chimice secundare. Dar ponderea acestor tipuri de acțiune a radiației asupra structurilor ereditare este foarte diferită. Rolul principal în modificarea structurilor ereditare îl joacă acțiunea directă a radiației.

Cînd vorbim de acțiunea radiației asupra eredității nu trebuie să uităm că diferitele tipuri de radiații ionizante se caracterizează printr-o densitate diferită a transferului liniar de energie. Aceasta arată că, trecînd prin celulă, diferitele feluri de radiații transferă în mod diferit energia pe parcurs. La doză egală, repartiția sau, după cum se spune, microgeometria energiei în interiorul celulei va fi net diferită pentru diferitele tipuri de radiații. Astfel, dacă celula este străbătută de o cuantă de radiație gamma, aceasta, în calea ei, va ioniza relativ rar atomii, iar pe de altă parte, particulele alfa vor lăsa urme (*track*-uri) dens ionizate *. În fig. 122 este reprezentată schema repartiției energiei celor patru tipuri de radiații ionizante, și anume a radiației gamma, Roentgen, protonice și alfa, în cazul trecerii lor prin corpul cromosomului.

Este pe deplin explicabil faptul că efectul biologic și posibilitatea modificării sale diferă pentru diversele tipuri de radiații ionizante. Așa-numita efectivitate biologică relativă (EBR) se mărește pe măsura creșterii transferului liniar de energie (TEL). Aceasta arată că analiza esenței fizice a diferitelor feluri de

* *Track* = drum, potecă, cale bătută (în limba engleză). — *N.R.*

radiații ionizante are o mare însemnătate pentru înțelegerea mecanismelor de acțiune a radiației asupra celulelor și cromosomilor *.

Pe de altă parte, se știe că unul și același organism pus în variate condiții de mediu poate reacționa diferit la aceeași doză de iradiere. Astfel, de pildă, este demonstrată marea însemnătate a oxigenului și a efectelor sale radiobiologice. De exemplu, dacă celulele colibacilului vor fi iradiate cu radiații gamma în atmosferă de oxigen, se va observa o anumită dependență directă a „rezistenței biologice" a celulelor în funcție de doza de radiație. În cazul iradierii acestor celule cu aceleași doze, dar în atmosferă de azot, gradul de lezare va fi cu mult mai mic. Efectul oxigenului are însemnătate maximă în cazul acțiunii radiațiilor asupra microorganismelor, plantelor și animalelor. Așa de exemplu, dacă presiunea parțială a oxigenului este normală (21%), doza letală pentru șobolani este de aproximativ 600 rad. Dacă se micșorează presiunea parțială a oxigenului pînă la 5%, iradierea cu aceeași doză nu omoară animalul. Fenomenul de apărare, adică de micșorare a efectului nociv al radiației, se poate obține și prin acțiunea unor compuși chimici.

Reacția celulelor la iradiere depinde în mare măsură de proprietățile lor interne, de existența unei capacități de apărare naturală structural-biologică și molecular-biochimică. Pentru om, doza letală este de 600 r, pentru șoarece — de 900 r, pentru amibă — de 100 000 r**. Unele bacterii rezistă la o iradiere de cîteva sute de mii de roentgeni. Aceste deosebiri în ceea ce privește rezistența la radiații arată cît de diferite pot fi efectele biologice din interiorul celulei consecutiv absorbției aceleiași cantități de energie. Celula are o vastă capacitate de a-și apăra structurile de importanță vitală de acțiunea distructivă a energiei radiante.

Toate acestea arată că atunci cînd ne referim la acțiunea radiațiilor asupra moleculelor de ADN trebuie să avem în vedere trei probleme principale interdependente: particularitățile fizice ale diferitelor radiații ionizante și diferențierea corespunzătoare în microgeometria repartiției energiei în celula iradiată; condițiile din momentul și de după iradiere care pot modifica efectul genetic al radiației; deosebirile specifice și individuale în ce privește biochimia și structura celulelor. Acești factori creează diferențieri în sistemul de apărare naturală al macromoleculelor de importanță biologică față de efectul nociv al radiației.

2. Diferite radiații ionizante și efectul lor biologic

Principalele categorii de radiații ionizante sînt radiațiile electromagnetice (gamma și Roentgen) și radiațiile corpusculare (electroni, protoni, neutroni, deutroni, particule alfa). Aceste radiații sînt denumite și radiații de înaltă energie.

* Pentru radiațiile X și gamma cu efectivitate biologică relativă mică ($\eta = 1$) se poate accepta: 1 rem $\approx$ 1 rad = 100 erg/g $\approx$ 1 r, fără a fi însă riguros exact, pentru că doza absorbită este în funcție de animal și de țesut.

La homeoterme (inclusiv omul) efectul iradierii este amplificat prin tulburarea mecanismelor de reglare supracelulară (neuro-humorale) de care depinde funcționarea coordonată a tuturor organelor, țesuturilor și celulelor.—*N.R.*

** 100 000 r = $1{,}6 \cdot 10^{17}$ perechi de ioni/g. Dacă se socotește 1 g = 1 cm^3 = $10^{12}\ \mu^3$ în corpul unei bacterii de 1 μ^3 se formează 160 000 de perechi de ioni. În același volum de apă se găsesc $6 \cdot 10^{11}$ molecule (600 de miliarde), adică ar fi ionizată aproximativ o moleculă din 300 000 sau un atom din aproape un milion de atomi.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Energia radiațiilor ionizante se măsoară în electronvolți (eV), în mii de electronvolți (keV) și milioane de electronvolți (MeV). Un electronvolt este energia dobîndită de un electron între plăcile unui condensator cu o diferență de potențial de un volt. Din radiațiile electromagnetice fac parte de exemplu undele radio, radiația infraroșie, radiația luminoasă (vizibilă), ultravioletă, Roentgen și gamma *. Capacitatea de a ioniza atomii și moleculele o pot avea însă numai radiațiile a căror energie este cu mult mai mare în comparație cu energia care menține electronii în atomi (aproximativ 10 eV) și atomii în molecule (aproximativ 5 eV). Astfel, oscilațiile electromagnetice cu energii de 20—100 eV sînt de fapt ionizante. Ele se caracterizează însă printr-o penetrabilitate foarte mică, fiind reținute în întregime în suprafața corpurilor lichide și solide. Pentru a ioniza o substanță este necesar ca radiațiile să pătrundă în ea. Penetrabilitatea radiațiilor depinde de energia lor. Astfel, de pildă, radiațiile gamma emise de izotopul radioactiv al cobaltului (Co^{60}_{27}) au energii de 1 000 000 eV (1 MeV), iar particulele rapide (protonii și altele) au energii imense, pînă la 10 000 000 eV (10 MeV).

Interacțiunea fiecărui fel de radiații ionizante cu substanța depinde de masa și sarcina electrică în cazul radiațiilor corpusculare. Neutronii, ca și radiațiile Roentgen și gamma, neavînd sarcină electrică, au penetrabilitate foarte mare. Efectul ionizant al radiațiilor este condiționat de apariția unor particule secundare, de data aceasta cu sarcină electrică.

Radiațiile Roentgen și gamma ionizează, în esență, atomii și moleculele prin acțiunea unor electroni secundari** care se desprind de atomi și, avînd energie mare, pătrund în substanță. Trecînd prin aceasta, electronul secundar ionizează atomii și moleculele. În cazul încetinirii mișcării electronului secundar, densitatea liniară a ionizării pe care o provoacă se mărește. La capătul traseului apare o așa-numită coadă, care conține un fragment dens ionizat în calea electronului care își încheie parcursul.

Prin natura lor fizică sînt tot electroni și așa-numitele particule beta emise de nucleele atomilor prin dezintegrări radioactive***. Particulele beta încărcate

---

* Vezi nota de la pag. 207.

** Acești „electroni secundari" pot fi electroni fotoelectrici sau electroni Compton.

În funcție de masa atomului și de energia radiației incidente se pot produce ionizări prin smulgerea unui electron din straturile periferice sau straturile profunde ale atomului. Ionizarea este urmată de completarea locului electronului smuls de către un electron de pe un nivel exterior nivelului de pe care s-a făcut ionizarea, însoțită de o emisie secundară de radiații infraroșii, luminoase, ultraviolete sau Roentgen. La rîndul lui, electronul smuls — electronul fotoelectric — cu cît are o energie mai mare, cu atît efectul lui ionizant va fi mai mare.

Electronii Compton provin din ciocnirea radiației incidente cu un electron liber sau slab legat (cum ar fi electronii periferici, în special ai elementelor ușoare). Radiația incidentă transmite o parte din energia ei electronului ciocnit, își deviază direcția și rămîne cu o energie corespunzător mai mică.

Dacă radiația incidentă este o radiație gamma cu energie de 1,02 *MeV* sau mai mare, poate rezulta o pereche electron-pozitron, adică o radiație electronică și o radiație pozitronică la rîndul lor ionizante.

Radiațiile electromagnetice (fără sarcină electrică) sînt ionizante, deci numai în mod indirect prin cele trei fenomene descrise; fotoelectric, Compton și generare de perechi, fenomene care reprezintă în același timp și mecanismele de atenuare a radiațiilor electromagnetice în substanță.—*N.R.*

*** Radiațiile nucleare rezultate prin dezintegrări pot fi:

— β^- (beta$^-$) = radiație electronică. Nucleul, emițînd un electron, rămîne cu o sarcină pozitivă în plus și se deplasează cu o căsuță spre dreapta în tabloul periodic al elementelor (numărul de ordine crește cu o unitate).

— β^+(beta$^+$) = radiație pozitronică. Nucleul care a emis un pozitrom rămîne cu o sarcină pozitivă mai puțin și se deplasează spre stînga cu o căsuță (numărul de ordine scade cu o unitate).

Scanned with OKEN Scanner

pozitiv sînt denumite pozitroni. Ele se eliberează în cazul dezintegrării elementelor radioactive obţinute în mod artificial. Astfel, prin emisie de radiaţie beta$^+$, sulful radioactiv (S_{16}^{32}) se transformă în fosfor (P_{15}^{32}).

Neutronii sînt emişi din nucleele atomice în cazul unor reacţii nucleare şi mai ales prin fisiunea nucleelor uraniului şi plutoniului. Neavînd sarcină electrică, neutronii nu ionizează direct atomii şi moleculele. Ciocnindu-se însă cu nucleele atomilor, neutronii rapizi (cu energie de circa 1 MeV) determină o radiaţie protonică care, avînd sarcină electrică, ionizează substanţa. Deosebit de eficiente sînt ciocnirile dintre neutroni şi atomii de hidrogen. În ce priveşte neutronii lenţi (cu energie cuprinsă între fracţiuni de electronvolt şi pînă la cîţiva electronvolţi), mecanismul acţiunii lor este diferit. Aceşti neutroni sînt captaţi în celule mai ales de către atomii de sodiu şi fosfor. Reacţia nucleară de captare a neutronilor lenţi duce la apariţia izotopilor radioactivi (Na_{11}^{24}, P_{15}^{32}) şi la emisie de radiaţie gamma. După cîteva ciocniri cu atomii de hidrogen şi neutronii rapizi devin mai lenţi şi pot fi captaţi de atomii de sodiu sau de fosfor cu formarea elementelor radioactive şi emisie de radiaţie gamma.

În timpul trecerii lor prin substanţă particulele încărcate electric (electronii, particulele alfa, protonii şi deutronii) interacţionează intens cu moleculele întîlnite în calea lor. Faptul că electronii sînt legaţi în moleculă prin forţe electrice explică de ce particulele cu sarcină electrică perturbă organizarea electronilor în atomi şi molecule determinînd excitarea sau ionizarea lor.

Protonii şi deutronii reprezintă nucleele de hidrogen cu sarcină electrică pozitivă. Masa protonului este de 1 836 de ori mai mare decît masa electronului. Deutronul, alcătuit dintr-un proton şi un neutron, are masa de 3 671. În timpul unor reacţii nucleare, aceste particule sînt expulzate din nucleele atomice. Protonii, care au energie colosală, ajung pe Pămînt ca radiaţie cosmică. Particula alfa este de 7 296 de ori mai grea decît particula beta şi este formată din doi protoni şi doi neutroni *. După natura lor fizică, particulele alfa sînt nuclee

---

— Protonică, prin care numărul de ordine şi de masă se reduce cu o unitate (elementul se deplasează cu o căsuţă spre stînga).

— α (alfa) = radiaţie helionică. Particula alfa fiind formată din doi protoni şi 2 neutroni (nucleu de heliu), nucleul pierde 4 unităţi de masă şi 2 sarcini electrice pozitive şi se deplasează în tabloul periodic cu două căsuţe la stînga.

— Radiaţia γ (gamma) este produsă prin reorganizarea particulelor nucleare după emisie de radiaţii corpusculare. Radiaţia gamma nu modifică nici sarcina şi nici masa nucleului.

— Radiaţia neutronică poate rezulta dintr-o reacţie nucleară (de obicei artificială) sau prin fisiunea nucleelor de uraniu sau de plutoniu.—*N.R.*

* E vorba, ca şi în tabelul 11, de masele comparative. Masele absolute şi relative ale particulelor sînt:

Particula		Masa absolută	Masa relativă
Electron	m_e^-	$0{,}9108 \cdot 10^{-27}$ g	$0{,}5486 \cdot 10^{-3}$
Proton	m_p^+	$1{,}6724 \cdot 10^{-24}$ g	1,0073
Neutron	m_n^0	$1{,}6747 \cdot 10^{-24}$ g	1,0087
Deutron	$m_{H_1^2}$	$3{,}3439 \cdot 10^{-24}$ g	2,0141
Helion	$m_{\alpha_2^4}$	$6{,}6451 \cdot 10^{-24}$ g	4,0026

Unitatea de masă relativă = 1/12 din C_6^{12}.

Masele comparative (din tabelul 11) absolute şi relative sînt masele de repaus, din această cauză fotonii Roentgen şi gamma sînt trecuţi cu masa = 0. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

de heliu, cu masa de 4,003. Ele rezultă din dezintegrarea radiului, plutoniului și a altor cîteva elemente radioactive (tabelul 11).

Tabelul 11

Radiația	Simbol	Masă	Sarcină
Electron	○	1	—
Proton	●	1 836	+
Neutron	○	1 839	0
Deutron	●○	3 671	+
Helion (alfa)	●● ○●	7 296	++
Radiația gamma și Roentgen	~~~→	0	0

Așadar, primul stadiu al acțiunii radiațiilor ionizante asupra celulei este legat de transmiterea directă a energiei particulelor încărcate sau a electronilor secundari către atomii și moleculele substanțelor celulare. Produsul principal al acestei acțiuni sînt ionii și atomii excitați de-a lungul parcursului particulei în celulă. Urmează stadiul al doilea, care poate fi denumit fizico-chimic. În acest stadiu, ionii reacționează cu moleculele din celulă, iar moleculele în stare de excitație se pot disocia. În aceste reacții apar radicalii liberi, instabili din punct de vedere chimic. Cel de-al treilea stadiu — cel chimic — este legat de reacția dintre radicalii liberi și macromoleculele intracelulare ca ADN, proteine și altele. În celulă durata primului stadiu este de 10^{-13} s, a celui de-al doilea de 10^{-11} s și a celui de-al treilea, de 10^{-6} s.

Gradul de interacțiune dintre particula cu sarcină electrică și atomii și moleculele substanței este direct dependentă de mărimea sarcinii electrice. În plus, această interacțiune este în raport invers cu viteza particulei, pentru că o particulă lentă dispune de mai mult timp de interacțiune. Transmiterea liniară diferită a energiei este corelată și cu microgeometria repartiției ionizărilor intracelulare, determinate de parcursul diferitelor particule. Particulele grele, cum sînt particulele alfa și protonii, pierd, din cauza sarcinii lor pozitive, o cantitate infimă de energie în timpul diferitelor ionizări și de aceea traiectoria lor este o linie dreaptă. Parcursul particulei beta cu masă foarte mică are forma unei linii frînte neregulate. Particula încărcată își pierde treptat energia. Pentru formarea unei perechi de ioni și excitarea a două-trei molecule se consumă în medie 34 eV. O particulă beta, cu energie inițială de 1,7 MeV, parcurgînd în țesut 800 μ, generează aproape 50 000 de perechi de ioni, iar o particulă alfa, cu energie de 5,486 MeV, parcurgînd 41,4 μ, formează circa 170 000 de perechi de ioni. Deosebirile în ce privește transferul liniar de energie apar clar dacă arătăm că în aer, în funcție de energia inițială, particula beta formează într-un parcurs de 1 cm între 30 și 300 de perechi de ioni, iar particula alfa, între 40 000 și 100 000 de perechi de ioni.

Repartizarea energiei are loc într-un mod cu totul diferit în cazul radiațiilor gamma și Roentgen. Radiația, trecînd pe lîngă numeroase molecule, se lovește

Scanned with OKEN Scanner

întîmplător de una din ele, smulge un electron căruia îi cedează întreaga energie sau o parte însemnată din ea (energia transmisă fotoelectronului). Radiațiile alfa și protonică dau în interiorul celulei coloane compacte de ioni. Pe de altă parte, radiațiile gamma, trecînd în torent prin celulă, determină apariția unor perechi relativ rare de ioni în întregul volum al celulei.

Acțiunea biologică a radiațiilor ionizante este dependentă de cantitatea de energie absorbită de țesuturi sau de celule și de aceea măsurarea dozei are o mare importanță. Trebuie făcută deosebire între doza de radiație dată obiectului iradiat și doza absorbită în țesuturi. Doza de iradiere poate fi măsurată după intensitatea ionizării aerului. În acest caz, roentgenul reprezintă unitatea de doză capabilă să determine formarea într-un cm^3 de aer uscat, la 0°C și la presiunea de 760 mm Hg a $2{,}1 \cdot 10^9$ perechi de ioni.

Unitatea de doză absorbită este radul, egal cu 100 ergi/g de substanță. Ergul este unitatea de energie egală cu forța de o dină, care acționează pe distanța de 1 cm *. Ergul este o unitate foarte mică. Astfel, pentru încălzirea unui gram de apă cu 1°C, energia necesară este de $4{,}2 \cdot 10^7$ ergi. Practic, cantitatea de perechi de ioni formați în aer este egală cu cea formată în țesuturile moi ale organismului. De aceea se acceptă că doza măsurată în roentgeni corespunde aproximativ dozei exprimate în razi în apă și în țesuturile moi. Doza biologică se măsoară prin echivalentul biologic al roentgenului (rem). Remul este o mărime obținută prin înmulțirea dozei de un rad absorbite cu efectivitatea biologică relativă (EBR). În sfîrșit, pentru evaluarea biologică a acțiunii radiațiilor pot fi de mare importanță deosebirile privind obținerea în timp a dozei menționate. O anumită doză poate fi obținută într-un timp scurt. În acest caz avem de-a face cu o iradiere unică. Doza poate fi dată în mod fracționat, adică în porțiuni cu intervale între iradieri. În sfîrșit, organismul poate fi supus unei iradieri cronice, adică permanente, cu doze mici. Așadar este necesar să se țină seama de intensitatea dozei care se exprimă prin numărul perechilor de ioni formate într-o unitate de timp (secundă, minut, oră etc.).

În analiza acțiunii radiațiilor asupra celulei și organismului trebuie să se țină seama de varietatea diferitelor elemente ce reprezintă radioactivitatea naturală și artificială. Transformarea elementelor radioactive în alte elemente se datorește radiațiilor. Dintre elementele de pe Pămînt, dezintegrarea aceluiași element radioactiv se face în mod constant. Astfel, atomii radiului se dezintegrează, într-un minut, unul la un miliard. Atomii radonului, care apar din atomii de radiu prin emisie de particule alfa, se dezintegrează, într-un minut, unul la opt mii. Viața diferitelor elemente radioactive este diferită. La calcularea dezintegrării continue se folosește timpul de înjumătățire, adică perioada de timp în cursul căreia se produce dezintegrarea a jumătate din numărul inițial de atomi radioactivi **.

---

* Forța de o dină = masa de 1 g × accelerația de 1 cm/s^2, de unde 1 erg = masa de 1 g × accelerația de 1 cm/s^2 × lungimea de 1 cm = $1\ g \times \frac{1\ cm}{s^2} \times 1\ cm = g\ cm^2 s^{-2}$.

10^7 erg = 1 joule și 4,186 joule = 1 calorie sau
1 cal = $4{,}186 \cdot 10^7 \approx 4{,}2 \cdot 10^7$ erg.—*N.R.*

** Timpul de înjumătățire sau $T_{1/2}$ poate fi extrem de diferit: de la 10^{21} ani pînă la 10^{-9} secunde. Prin dezintegrări, nucleele radioactive devin stabile. Stabilitatea poate fi obținută în urma unei singure dezintegrări (de obicei la elementele radioactive ușoare artificiale) sau în urma unui șir de dezintegrări, ca la elementele radioactive naturale (și transuraniene = elemente radioactive artificiale cu numere de ordine de la 93 la 103). — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

În cazul bombardării cu protoni, neutroni sau deutroni a oricărui element din sistemul periodic apare cel puțin un izotop radioactiv. În prezent sînt cunoscuți peste 500 de izotopi radioactivi artificiali. Spre deosebire de elementele radioactive, aceștia, cu excepția celor mai grei, ca plutoniul, nu emit particule alfa. Izotopii radioactivi artificiali sînt obținuți în mari cantități la exploatarea surselor de energie nucleară. Aceste elemente radioactive artificiale sînt larg folosite în tehnică, știință și medicină. Efectul biologic al izotopilor radioactivi este determinat de proprietățile lor fizice, precum și de posibilitatea penetrației și acumulării lor în organism.

Unii izotopi artificiali folosiți în medicină emit numai particule beta (S^{35}_{16}, Y^{90}_{39}, Sr^{90}_{38}), în timp ce alții emit și radiații gamma penetrante (Co^{60}_{27}, Ar^{198}_{47}, Na^{24}_{11}).

Unitatea de radioactivitate este curieul. Un curie reprezintă cantitatea de element radioactiv în care numărul de dezintegrări pe secundă este egal cu $3{,}7 \cdot 10^{10}$ și corespunde radioactivității unui gram de radiu *.

În concluzie, trebuie să arătăm că la analiza mecanismului de acțiune a radiațiilor ionizante atrage atenția marea neconcordanță dintre energia radiațiilor și efectul lor biologic. Radiații de energie absolută foarte mică pot determina profunde alterări ale proceselor biologice și moartea organismului. Doza mortală pentru om și pentru unele mamifere este de 600—800 rad **. Dacă această cantitate de energie s-ar transforma integral în căldură, temperatura corpului s-ar urca numai cu 0,002°C. Numărul moleculelor din celulă la un volum de circa 500 μ^3 este egal cu aproximativ 10^{12} ***. În cazul iradierii cu o doză de 1 000 rad, la un milion de molecule din celulă, numai una singură va fi atinsă.

Care este cauza acestui efect nimicitor al radiațiilor ionizante în cazul unei lezări inițiale atît de neînsemnate a substanțelor din care este alcătuită celula?

Desigur, lezarea oricărei structuri celulare importante își are partea sa de contribuție în radiolezarea generală. Una dintre manifestările caracteristice ale efectului radiației asupra celulei este inhibarea activității sale mitotice. În experiențele efectuate pe amibe s-a demonstrat că protozoarele iradiate reveneau la ritmul normal de diviziune după ce li se introducea protoplasmă provenită din celule neiradiate.

Prin doze masive pot fi afectate mari structuri citoplasmatice, precum și procesele de sinteză care au loc în citoplasmă. De asemenea poate fi provocată formarea unor produse toxice precum și alte tulburări. Însă dozele necesare pentru lezarea citoplasmei sînt imense în comparație cu dozele care afectează cariostructurile celulei.

Faptul că reacția la iradiere a nucleului se deosebește de cea a citoplasmei se datorește prezenței în nucleu a moleculelor cu acțiune biologică unică, pe cînd în citoplasmă există un sistem alcătuit dintr-o masă de moleculă care se pot

---

* Această unitate este foarte mare și de aceea se întrebuințează submultiplii: milicurie = mc = $3{,}7 \cdot 10^7$ dezintegrări pe secundă și microcurie = μc = $3{,}7 \cdot 10^4$ dezintegrări pe secundă.

** 600 rad = 60 000 erg/g = $1{,}4 \cdot 10^{-3}$ cal/g și
800 rad = 80 000 erg/g = $2{,}0 \cdot 10^{-3}$ cal/g.—*N.R.*

*** Numărul moleculelor dintr-o celulă nu poate fi apreciat nici aproximativ, din cauză că masele moleculare sînt extrem de variate iar masa moleculară a rețelei macromoleculare tridimensionale care formează gelul protoplasmatic nu poate fi determinată.
Dacă în volumul de 500 μ^3 ar fi numai apă, numărul moleculelor ar fi de $1{,}5 \cdot 10^{13}$.

Scanned with OKEN Scanner

înlocui reciproc. De aceea, chiar lezarea unei părți apreciabile din moleculele citoplasmei nu are urmări biologice însemnate.

Numeroase experiențe efectuate pînă în prezent relevă deosebiri extrem de mari în ceea ce privește reacția nucleului și aceea a citoplasmei la iradiere. De exemplu, în experiențe pe viermi-de-mătase s-au folosit ovule în care nucleul fusese în prealabil distrus prin cauterizare. Asemenea ovule cu nucleul distrus erau iradiate cu doza imensă de 550 000 r. După fecundarea unor asemenea ovule cu spermatozoizi normali se dezvoltă așa-numitele larve androgene, adică larve care repetă în întregime caracterele paterne. Acest tip de dezvoltare este determinat de structura ereditară a ouălor fecundate. Aceste ouă conțin citoplasma iradiată a ovulului și un nucleu cu cromosomi paterni. Astfel de larve nu manifestă semne de afectare actinică.

Dacă se supune iradierii un ovul cu nucleu viu, doze de astădată cu mult mai mici lezează cromosomii mamei care intră în componența nucleului oului, cu tulburarea consecutivă a dezvoltării embrionului *.

Într-o altă experiență s-a folosit iradierea cu particule alfa emanate de poloniul radioactiv **. Această radiație are putere de penetrație redusă, de numai 30 μ. Ouăle ihneumonidelor se caracterizează prin poziția excentrică a nucleului.

Iradierea nucleului dinspre suprafața celulei de care este apropiat duce la lezarea lui. Dacă iradierea se face din partea opusă, efectul îl suportă numai citoplasma. Iradierea nucleului determină moartea consecutivă a oului chiar numai printr-o singură particulă alfa pătrunsă în nucleu. Pentru a determina același efect prin iradierea citoplasmei e nevoie de un milion de particule alfa.

Sînt foarte semnificative experiențele de iradiere a unor părți ale citoplasmei sau ale cromosomilor cu microfascicule de protoni sau de radiații ultraviolete.

În cazul în care în zona unui cromosom de 2,5 μ pătrund doar cîteva zeci de protoni apar importante modificări. Dacă fasciculul de radiație ultravioletă atinge regiunea centromerului, cromosomul își pierde capacitatea de a migra și se elimină din mitoză. Totodată, trecerea prin citoplasmă a sute de mii de protoni, fără ca să atingă nucleul, nu provoacă nici un fel de tulburări decelabile.

Toate aceste date indică existența unui anumit efect biologic, precis conturat și determinat de lezarea radioactivă a citoplasmei (a mitocondriilor, ribosomilor și a altor structuri). Totuși asupra vieții celulei o influență incomparabil mai mare o exercită afectarea cromosomilor din nucleul celulei. Procesele fizice care au loc în celulă în urma iradierii acesteia cu radiații ionizante determină modificări radiochimice ale substanțelor. Modificările radiochimice au ca rezultat lezarea structurilor citoplasmatice și nucleare ale celulei. Această lezare duce la pierderea sau la modificarea activității funcționale a unor părți, de importanță vitală pentru celulă și organism, din informația genetică înscrisă în structurile moleculelor de ADN. Care este deci categoria principală de radiomodificări cromosomice, care, apărînd la nivel molecular, duc la modificări biologice complexe ale eredității și vieții organismului? Răspunsul la această întrebare îl găsim în capitolul care urmează.

---

* În ce privește volumul celulelor, el este foarte diferit: o hematie are în medie 90 μ^3, iar o celulă hepatică mai mult de 100 000 μ^3 (într-un mm^3 sînt 1 miliard de μ^3). —*N.R.*

** Poloniul, Po_{84}^{210}, este un element radioactiv natural și face parte din familia uraniului; emite radiații alfa transformîndu-se în plumb (Pb_{82}^{206}). Are $T_{1/2}$ = 140 de zile. — *N.R.*

3. Principalele categorii de efecte genetice ale radiațiilor ionizante

Pătrunzînd în celulă, radiația ionizantă afectează nucleoproteidele cromosomilor și moleculele de ADN din compoziția lor. Studierea ADN-ului în soluție și în stare uscată a lămurit în ce constă efectul radioactivității asupra moleculelor ereditare. Iradierea ADN-ului provoacă o puternică micșorare a viscozității lui, datorită ruperii lanțurilor structurii polimerice.

Molecula de ADN este alcătuită din două lanțuri polinucleotidice. Dacă o asemenea moleculă bicatenară este tratată cu uree, aceasta determină ruperea legăturilor de hidrogen, molecula desfăcîndu-se în structurile monocatenare din care e formată. În cazul iradierii unor asemenea molecule disociate cu ajutorul ureii s-a stabilit că energia necesară pentru ruperea unui lanț monocatenar este de 10—20 eV *. Sub influența iradierii are loc nu numai ruperea structurii polimerice a ADN-ului, ci și diferite alte modificări în structura chimică a moleculei. Este de o deosebită importanță faptul că aceste modificări interesează bazele azotate din care este alcătuit codul informației genetice.

Numeroase date experimentale au arătat că radiațiile modifică în mare măsură proprietățile ereditare ale organismului. Sub influența lor se obțin toate tipurile de modificări ereditare cunoscute pînă în prezent. Totodată, s-a demonstrat că radiațiile ionizante generează mutații la toți reprezentanții lumii vegetale și animale, la toate bacteriile și virusurile.

Corpul organismelor pluricelulare este construit din miliarde de celule somatice, care conțin întregul complex al informației genetice, dat fiind că aceste celule posedă de obicei un nucleu diploid complet. Mutațiile care apar în aceste celule se numesc mutații somatice; ele intervin în celulele somatice modificînd fie diferite celule ale corpului, fie diferite țesuturi care se dezvoltă din celula mutantă inițială. Aceste mutații dispar o dată cu dispariția organismului și nu se transmit generațiilor următoare.

În cazul apariției unor mutații în celulele germinale avem de a face cu mutații gametice. Aceste mutații se transmit prin gameți (spermatozoizi și ovule) generațiilor următoare.

După mecanismul apariției lor, există patru categorii principale de mutații. Din prima categorie fac parte mutațiile genice care apar printr-o modificare locală în structura chimică a macromoleculei de ADN din cromosom. A doua categorie este reprezentată de microanomalii datorită pierderii unor microregiuni ale cromosomului — gene separate sau grupe de gene — cu microinversiuni de aceeași dimensiune sau cu alte modificări microscopice și submicroscopice. Practic nu putem deosebi de obicei prima categorie de mutații de cea de-a doua. De aceea ele sînt reunite sub denumirea de mutații punctiforme. Această denumire subliniază caracterul local al modificărilor, faptul că ele coincid cu anumite sedii ale cromosomilor. Din a treia categorie de mutații fac parte restructurările cromosomice, iar din cea de-a patra — lipsa disjuncției unor cromosomi întregi sau chiar a unor genomuri întregi.

---

* Ruperea lanțului polinucleotidic se face prin ruperea unei legături dintre o moleculă de acid fosforic și o moleculă de dezoxiriboză (sau riboză), adică prin ruperea unei legături esterice dintre acidul fosforic și funcția alcool primar (din C_5) sau alcool secundar (din C_3) a moleculei de dezoxiriboză (sau riboză) precedentă sau următoare.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Principalele tipuri de mutaţii punctiforme, atît dominante, cît şi recesive, sînt mutaţiile aşa-numite vizibile, mutaţiile letale şi mutaţiile biochimice. Indivizii cu mutaţii vizibile prezintă modificări ale unor anumite caractere fenotipice. Prezenţa unor mutaţii letale duce la pieirea individului. Este clar că mutaţiile letale dominante, îndată după apariţia lor chiar, omoară individul, iar cele recesive se manifestă la homozigoţi, transmiţîndu-se în stare heterozigotică unui număr nelimitat de generaţii. Mutaţiile biochimice determină modificarea proprietăţilor biochimice ale celulelor şi organismului. Am dat mai sus cîteva exemple de asemenea mutaţii la ciuperci, bacterii, om şi alte organisme.

Dacă mutaţiile punctiforme se clasifică după modul în care influenţează proprietăţile organismului, restructurările cromosomice se caracterizează în primul rînd după tipul de modificare a structurii cromosomilor. Dintre acestea, principalele sînt: inversiunile, deleţiile şi translocaţiile. La baza apariţiei restructurărilor cromosomice se află un proces iniţial de rupere a cromosomilor. Apariţia sub acţiunea radiaţiei atît a mutaţiilor punctiforme, cît şi a restructurărilor cromosomice se explică prin absorbţia de energie într-un anumit locus al unui cromosom. În cazul unor mutaţii punctiforme se produc modificări chimice sau structurale ale locusului şi cu aceasta se termină modificările determinate de acţiunea radiaţiilor ionizante care au atins locusul respectiv al cromosomului. În acest caz, se poate vorbi despre un singur eveniment sau, după cum se spune, despre un mecanism de apariţie a mutaţiilor într-un singur timp. În cazul ruperii cromosomului, un singur eveniment, adică apariţia unei rupturi în nucleu, poate duce la mutaţii numai în cazul în care se produce o deleţie terminală. De regulă, celulele din care lipseşte o porţiune însemnată a unui cromosom pier. În ce priveşte celelalte tipuri de restructurări cromosomice, ele nu pot apărea în urma unei singure rupturi în cromosom. La baza apariţiei în celule a unei restructurări cromosomice se află de obicei două sau mai multe ruperi independente. În cazul în care s-au produs două ruperi, e vorba de un mecanism de apariţie a mutaţiilor în doi timpi.

Pentru înţelegerea principiilor acţiunii radiaţiilor în cazul restructurărilor cromosomice, este bine să se ştie care este faza din ciclul diviziunii celulare în timpul căreia are loc această acţiune. Din acest punct de vedere, procesele de autoreproducere a cromosomilor constituie principalele procese din ciclul de diviziune celulară. Ciclul de diviziune are patru faze principale. Prima poate fi numită faza mitotică, în care cele două nuclee care s-au format se instalează în celule-fiice. Cea de-a doua este interfaza presintetică ce intervine după mitoză; în timpul acesteia nu se produce încă sinteza ADN-ului, fiecare cromosom fiind reprezentat de un filament. A treia este interfaza sintetică. În timpul acestei faze are loc sinteza ADN-ului care precede autoreproducerea structurală a cromosomilor, fiecare cromosom fiind reprezentat în acest stadiu printr-un dublu filament monocatenar. A patra este interfaza postsintetică; în această fază se termină sinteza ADN-ului şi are loc autoreproducerea structurală a cromosomilor. Fiecare cromosom apare format din cîte două cromatide unite între ele printr-un centromer. În primul stadiu, adică în mitoză, are loc diviziunea centromerului, fiecare dintre cromatide transformîndu-se într-un cromosom independent, care se depărtează spre polul său de diviziune.

Dacă radiaţia acţionează asupra acelor stadii ale ciclului celular în care cromosomii sînt reprezentaţi de un singur filament, atunci apar restructurări cromosomice. În cazul în care radiaţia acţionează asupra cromosomului format din două cromatide, apar restructurări ale acestora.

Scanned with OKEN Scanner

Mutaţiile prin nondisjuncţia cromosomilor duc la apariţia unor indivizi cu un surplus sau cu deficit de cromosomi *. Am examinat mai sus această categorie de mutaţii, în capitolul privitor la ereditatea la om. În cazul în care nondisjuncţia priveşte toţi cromosomii (întregul genom) apare poliploidia.

Categoria examinată de restructurări cromosomice, precum şi de mutaţii prin nondisjuncţie, poate să prezinte în multe cazuri o anumită manifestare fenotipică, modificînd dezvoltarea individuală.

În cazul acţiunii radiaţiilor, mutaţiile apar numai atunci cînd acestea pătrund direct în celulele germinale. Pentru apariţia mutaţiilor este de regulă necesară absorbţia energiei radiante în cromosomi. Procesul radiochimic ca atare, care duce la apariţia mutaţiilor, este complex şi durează un timp oarecare. Atît în cazul apariţiei mutaţiilor genice, cît şi al ruperilor de cromosomi poate avea loc un stadiu potenţial reversibil asupra căruia se poate acţiona atît în timpul, cît şi după iradiere. După încheierea procesului de stabilizare a mutaţiilor însă, ele trec în categoria modificărilor ireversibile. Alte modificări ale stării mutante în locusul cromosomului respectiv pot fi determinate numai pe calea unor noi procese de mutaţie ale acestui locus.

Pentru înţelegerea proceselor legate de efectul radiaţiei asupra nucleului celulei e de mare importanţă înţelegerea mecanismului acţiunii radiaţiilor asupra sintezei ADN-ului. Ciclul de diviziune celulară trece prin mai multe faze. Mitoza propriu-zisă descrisă mai sus, în timpul căreia se produce repartizarea cromosomilor, are durată relativ scurtă. Faza cea mai lungă din ciclul celular este interfaza. S-a arătat că aceasta se împarte în trei stadii bine delimitate. Îndată după mitoză intervine stadiul presintetic al interfazei (G_1). Urmează stadiul de interfază în timpul căruia se dublează prin sinteză cantitatea de ADN şi de proteine nucleare (S). Ultimul stadiu al interfazei este cel postsintetic (G_2), după care urmează profaza mitozei. În ceea ce priveşte durata acestor diferite stadii ale ciclului celular, se ştie, de exemplu, că pentru celulele din bulbul de ceapă, mitoza durează 3 ore, stadiul presintetic al interfazei, 4 ore şi 50 de minute, cel sintetic, 13 ore, iar cel postsintetic, 3 ore şi 10 minute. Pentru perioada interfazei, revin în total 21 de ore din cele 24 în care se desfăşoară întregul ciclu celular. În ce priveşte sensibilitatea citogenetică la efectul radiaţiei, deosebit de sensibil este stadiul postsintetic (G_2). În experienţe pe *Vicia faba* s-a descoperit că în urma iradierii celulelor radiculare, aflate în stadiul de presinteză, cu doze de 50—200 r, în aceste celule întîrzie vizibil apariţia sintezei de ADN. Aceleaşi doze n-au exercitat însă nici o influenţă dacă în momentul iradierii sinteza ADN-ului era începută. În experienţele pe ficat în regenerare s-a observat că doza de 300 r, acţionînd asupra celulelor aflate în interfază în stadiul presintetic, frînează începerea sintezei de ADN. În ceea ce priveşte celulele în care această sinteză era începută a fost nevoie de o doză de aproape 2 000 r pentru a produce asupra lor o acţiune depresivă. Acelaşi lucru s-a constatat şi pentru celulele măduvei osoase a omului în culturi de ţesuturi, unde doza de 200 r întîrzie stadiul de sinteză, iar doza de 5 000 r acţionează chiar şi asupra sintezei de ADN începute. În cursul acţiunii lor în stadiul de presinteză, radiaţiile întîrzie deopotrivă atît sinteza ADN-ului, cît şi a proteinelor nucleare. Prezintă interes faptul că celulele canceroase se deosebesc de cele normale printr-o disarmonie în începerea proceselor de sinteză a ADN-ului şi a proteinelor nucleare. În celulele canceroase sinteza proteinelor nucleare nu aşteaptă parcurgerea stadiului

* Se produc diverse forme de aneuploidie.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

presintetic pentru a începe o dată cu sinteza ADN-ului. În acest caz, sinteza proteinelor nucleare începe cu mult înaintea sintezei moleculelor de ADN.

Inhibiția mitozei, întîrzierea în desfășurarea acesteia, este unul dintre efectele caracteristice ale radiațiilor asupra celulei. Celulele umane în culturi de țesuturi au întregul ciclu de diviziune celulară de 18—20 ore. Prin iradiere cu o doză de 25, de 50 și de 100 r, această durată se poate prelungi pînă la 70 de ore. Pentru diferitele celule, prelungirea ciclului de diviziune sub acțiunea radiațiilor este dependentă de sensibilitatea deosebită a diferitelor stadii ale interfazei. În celulele normale de om cultivate *in vitro*, întîrzierea privește atît perioada presintetică, cît și cea postsintetică a interfazei. În celulele liniei canceroase umane *HeLa* *, radiațiile inhibă numai stadiul presintetic al ciclului mitotic.

4. Principalele relații cantitative care determină apariția radiomutațiilor în funcție de doza, felul și intensitatea radiațiilor

Descoperirea faptului că între numărul de mutații apărute prin acțiunea radiațiilor și doza de iradiere există o dependență directă a avut un rol important în istoria radiobiologiei, determinînd o largă aplicare a metodelor cantitative de cercetare. Pentru unele cazuri s-a stabilit o relație directă între efectul genetic al iradierii și doză. Este cunoscută relația directă dintre numărul celulelor lizogene de *Escherichia coli*, în care profagul se transformă în fag, și doza de radiație Roentgen. Relații similare au fost observate la multe mutații în diferite organisme (fig. 123). Dacă din curba de inducție a fagilor în celulele de *E. coli*, prezentată alăturat, precum și din alte cazuri vom calcula pentru fiecare doză numărul mutațiilor și-l vom compara cu mutațiile care apar în mod spontan, vom constata

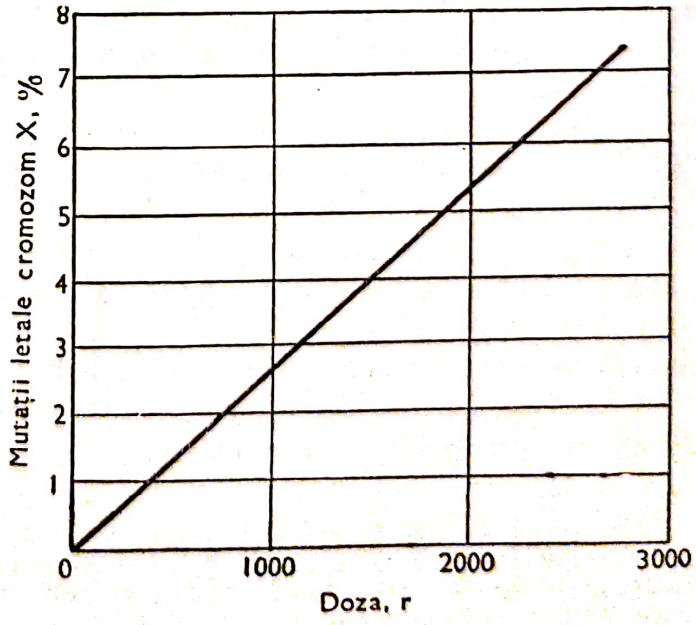


Fig. 123. Relația directă dintre doza de radiații Roentgen și procentul de mutații letale recesive care apar în cromosomul sexual *X* la drosofila.

* *HeLa* — linie carcinomatoasă umană izolată în 1951 de G. Gey și colaboratorii de la o bolnavă al cărui nume începe cu silabele *He—La*. Cultura de HeLA este utilizată mai ales ca mediu pentru cultivarea *in vitro* a virusurilor umane.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

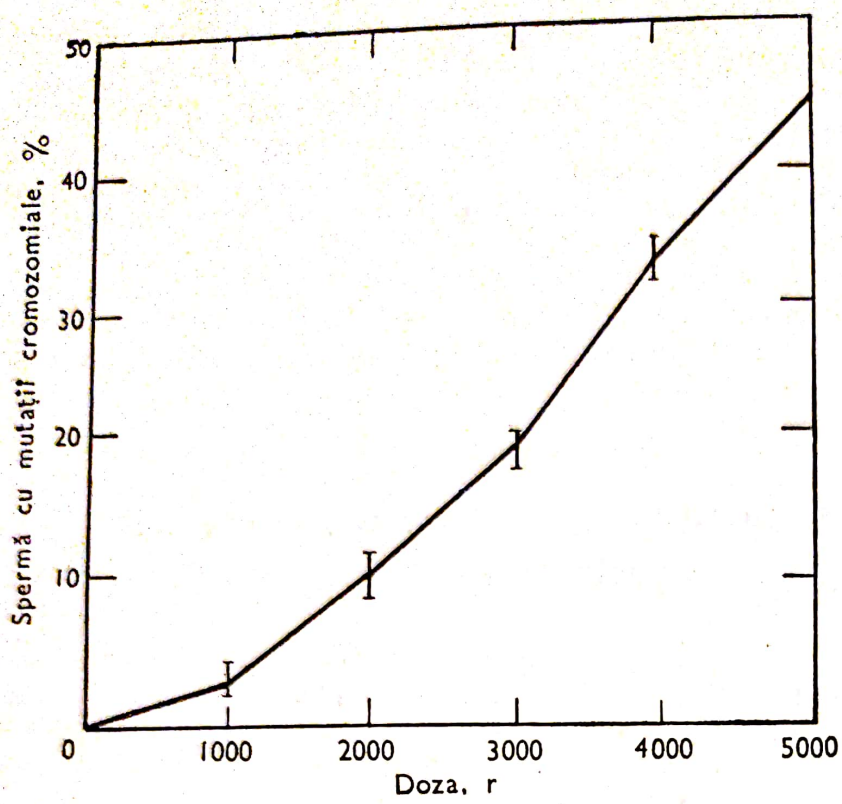


Fig. 124. Legătura dintre doza de radiații Roentgen și procentul de restructurări cromosomice la drosofila.

că prelungind linia dreaptă în jos, spre colțul stîng al graficului, ea va trece prin punctul 0.

Pentru rezolvarea acestei probleme importante nu sînt suficiente datele indirecte, deși convingătoare, obținute pe calea extrapolării relației directe dintre numărul de mutații și doza de iradiere. În prezent, problema acțiunii dozelor mici de radiații Roentgen moi, cuprinse între 10 și 20 r, este amănunțit studiată. În experiențe pe drosofila s-a arătat că dozele de 5 și 2,5 r au un efect genetic direct proporțional cu doza.

În ceea ce privește ruperile de cromosomi, ele apar de asemenea în funcție de doză. Numărul de restructurări cromosomice însă (fiecare din ele cerînd prezența în nucleu a două ruperi independente) crește în conformitate cu teoria probabilității, proporțional cu pătratul dozei (fig. 124). Pentru ca fragmentele rezultate din ruperile independente să poată intra în noi combinații, care să determine restructurări ale cromosomilor, ele trebuie să apară relativ aproape una de alta. Calculele arată că această distanță nu trebuie să fie mai mare de 1 μ. Dat fiind că apariția acestor restructurări cromosomice în doi timpi depinde de ruperile independente, ivirea lor trebuie să fie condiționată de intensitatea dozei*.

---

* La o radiație trebuie deosebită energia de intensitate. Energia radiației este dependentă de lungimea de undă, viteză etc. și se exprimă în eV sau MeV, în ergi sau calorii, adică într-una din unitățile de energie. Intensitatea este dată de cantitatea de radiație sau de cantitatea de energie care trece într-o secundă prin suprafața de 1 cm^2 perpendiculară pe direcția radiației. Intensitatea se exprimă în ergi pe secundă pe centimetru pătrat: erg $s^{-1}cm^{-2}$. Efectele radiațiilor sînt în funcție de energia lor și de intensitatea lor. Astfel, pentru ruperea unui cromosom e nevoie de o anumită energie (cel puțin 5—10 eV). Sub această energie ruperea nu se produce, indiferent de intensitatea radiației.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

În cazul în care această doză se administrează dintr-o dată, într-un interval scurt de timp, ne putem aștepta la un efect maxim pentru toate recombinările posibile de fragmente care apar simultan. Dacă aceeași doză este administrată într-un timp mai îndelungat sau intermitent, atunci un mare număr de ruperi, intervenind asincron, nu vor putea intra în recombinare și din această cauză fragmentele provenite din rupere se vor combina potrivit ordinii vechi, restabilind structura inițială a cromosomului. Faptul este în întregime confirmat de experiențele pe *Tradescantia*, porumb și alte organisme. Într-adevăr, numărul de restructurări cromosomice se micșorează cu reducerea intensității dozei.

După cum am văzut mai sus, important este faptul că la diferite radiații, în celulă apare o repartizare spațială diferită a ionilor. Ca urmare, la aceeași cantitate de energie absorbită, diferitele feluri de radiație au și acțiune genetică diferită. Dacă luăm ca unitate efectivitatea genetică* a radiației gamma, neutronii lenți au în medie o eficiență de cinci ori mai mare, radiația alfa și neutronii rapizi au o efectivitate de 20 de ori și de 10 ori mai mare. Totuși, pentru organisme diferite și pentru diferite tipuri de mutații, efectivitatea genetică a diverselor radiații poate să se abată în mod evident de la indicii medii menționați. Pentru unele mutații la plante s-a demonstrat că neutronii rapizi pot depăși de 100 ori efectivitatea genetică a radiației gamma.

Esențial este faptul că relația cantitativă dintre efectul genetic și doza de iradiere variază pentru diferitele feluri de radiații. Am văzut mai înainte că în cazul acțiunii radiației gamma și Roentgen, pentru mutațiile punctiforme s-a stabilit existența unei dependențe directe de doză, iar pentru restructurările cromosomice în doi timpi — proporționalitatea cu pătratul dozei. În cazul radiației neutronice și alfa, numărul de restructurări crește proporțional cu doza.

Rămîne nerezolvată problema dependenței apariției mutațiilor punctiforme de intensitatea dozei.

Pe de o parte s-a constatat că efectul dozei nu influențează frecvența mutațiilor. În acest caz, nici factorul timp (adică durata iradierii cu o anumită doză), nici iradierea fracționată nu modifică numărul de mutații. În aceste cazuri, datorită lipsei unui prag și lipsei oricărei restabiliri a mutațiilor, efectul tuturor iradiațiilor se cumulează. Un asemenea exemplu îl constituie obținerea de mutații somatice la tutun. De obicei, florile tutunului sînt colorate însă prin mutația unei anumite gene *P* culoarea nu mai apare. Dacă se iradiază florile în dezvoltare, mutațiile genelor *P* apar sub formă de pete albe pe petale. După numărul acestor pete se poate stabili frecvența mutațiilor genei *P*. Plantele supuse unei iradieri permanente au fost sădite la nouă distanțe diferite de sursa de radiație gamma (Co^{60}_{27}). Dozele zilnice de iradiere pentru aceste diverse grupe de plante au fost de: 1,24; 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 150 și 200 r în 20 de ore. În figura 125 este reprezentată grafic dependența numărului de mutații de doza de iradiere cronică **.

---

* Efectivitatea genetică, prin analogie cu efectivitatea biologică relativă a radiațiilor (vezi și nota de la pag.208).

** În această experiență s-a utilizat o radiație de energie constantă, dar cu intensitate cu atît mai mică, cu cît distanța dintre sursa radiantă și plantă era mai mare, pentru că intensitatea oricărei radiații descrește proporțional cu pătratul distanței. Lipsa pragului se referă în acest caz la lipsa unui prag al intensității radiației. Cînd radiația are energia necesară, creșterea intensității mărește proporțional probabilitatea producerii leziunilor cromosomice.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

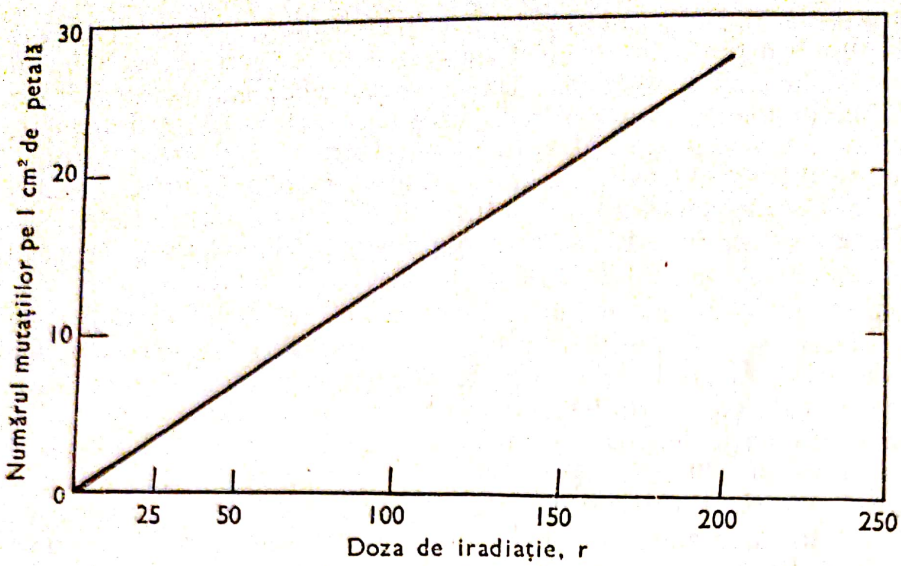


Fig. 125. Caracterul liniar al relației dintre doză și numărul mutațiilor la porumb, în cazul unei iradieri cronice.

După cum se vede, această dependență are un caracter liniar foarte pronunțat. Lipsa pragului rezultă clar din faptul că doza de 1,24 r administrată sub formă de iradiere cronică în decurs de 20 de ore se încadrează în dependența liniară a numărului de mutații pe doză. Cumularea efectelor genetice este evidentă și aceasta cu condiția ca fiecare doză cuprinsă între 1,24 și 200 r să fie administrată continuu în decurs de 20 de ore.

În cercetări pe drosofila, analiza mutațiilor letale care apar în cromosomul sexual a demonstrat că iradierea fracționată cu doze mici corespunde exact efectului întregii doze administrate deodată. Astfel, în cazul iradierii spermatidelor cu radiații gamma în doză de 20 r apar $0{,}224 \pm 0{,}04\%$ mutații. Prin iradiere în patru etape cu doze de cîte 5 r s-a obținut $0{,}207 \pm 0{,}04\%$ mutații. În cazul iradierii spermatidelor cu neutroni rapizi în doză de 20 r apăreau $0{,}254 \pm 0{,}048\%$ mutații. În urma a patru iradieri cu doze de cîte 5 r s-a obținut $0{,}205 \pm 0{,}039\%$ mutații. Comparînd numărul de mutații pentru 1 r, mutații care apar la o singură iradiere cu o doză mare, se constată că efectivitatea genetică relativă a dozelor mici poate fi mai mare în comparație cu aceea a iradierii cu doze mari. Astfel, la drosofila numărul mutațiilor letale care revin pentru 1 r la iradierea spermatozoizilor cu doza de 1 000 r este de 0,0016% cînd doza este administrată o dată și de 0,0048% cînd doza este administrată fracționat.

Totuși, în unele cazuri, relația dintre intensitatea dozei și numărul mutațiilor se poate pune în evidență în mod exact. În ultimii ani, această relație a fost studiată deosebit de perseverent în experiențe de radiogenetică făcute pe șoareci. S-a demonstrat că la șoareci efectul radiației gamma, studiat prin mutațiile a șapte locusuri, depinde în mod evident de intensitatea dozei. În acest caz, rămîne însă necunoscută natura modificărilor. Nu este exclus ca o parte însemnată a acestor modificări să fie determinată de restructurări cromosomice. În acest fel, problema relației dintre intensitatea dozei și numărul mutațiilor puncti-

forme rămîne o problemă deschisă. Această problemă e de mare însemnătate pentru înțelegerea mecanismelor acțiunii radiațiilor asupra eredității și pentru aprecierea efectului dozelor cronice și acute de iradiere. În ceea ce privește restructurările cromosomice, după cum s-a arătat mai sus, eficiența mai mică a iradierii fracționate în comparație cu aceea a iradierii acute este pe deplin explicabilă. În cazul ruperilor de cromosomi efectul primar al radiațiilor este același atît la iradierea cronică cît și acută. Aceasta demonstrează că în anumite stări fiziologice, fragmentele de cromosomi pot să se mențină multă vreme în celulă și numai după un anumit timp să se producă recombinarea lor. Dacă iradierea cronică sau acută cu anumită doză determină în aceste condiții apariția unui număr egal de ruperi ale cromosomilor și numărul restructurărilor va fi același. Avem un asemenea exemplu la spermatozoidul drosofilei. În acest caz, restructurările cromosomice nu sînt dependente de intensitatea dozei. În spermatozoizi toate fragmentele se păstrează, iar recombinările se produc după pătrunderea spermatozoidului în ovul. De aceea este indiferent dacă un anumit număr de ruperi cromosomice s-a produs printr-o iradiere unică sau prin iradiere cronică. Toate acestea arată că pentru restructurările cromosomice nu există diferențe în ce privește procesele fizice sau radiochimice în funcție de intensitatea dozei, adică în funcție de administrarea acută sau cronică a aceleiași doze de radiație. Efectul apare datorită faptului că în celulă se modifică posibilitățile de recombinare a fragmentelor de cromosomi. Cu totul altfel stau lucrurile cînd ne referim la relația dintre intensitatea dozei și mutațiile genice. În acest caz este vorba de repararea unor modificări genetice încă neîncheiate.

Se presupune că există procese naturale de refacere a structurilor vătămate și că sistemul energetic care asigură această refacere se dezorganizează sub acțiunea unor doze mari de radiație. Toate aceste probleme rămîn deocamdată nerezolvate. În prezent, oamenii de știință lucrează în aceste direcții, făcînd vaste și laborioase experiențe cu privire la efectele genetice ale iradierii cronice cu doze mici.

Mai intervin în plus probleme importante în legătură cu studierea efectului iradierii cronice asupra eredității în condiții naturale. În acest caz trebuie să se țină seama mai ales de particularitățile biologice ale organismului. Procesele pot fi urmărite la plante.

Mecanismul esențial în lezarea plantelor constă în acțiunea radiațiilor ionizante asupra nucleului celular. Urmărirea efectului somatic al iradierii asupra ritmului de creștere, asupra greutății și a altor particularități arată că diferitele specii de plante au o radiosensibilitate foarte variată, de la 1 la 500. Această variabilitate ține de particularitățile structurale ale cromosomilor, de numărul lor și de mărimea nucleului.

Plantele cu număr mic de cromosomi au o radiosensibilitate deosebit de ridicată (din cauza volumului mare al nucleului și al numărului mic de corpuri cinetice conținute).

Dimpotrivă, plantele cu un număr mare de cromosomi și cu nucleu de volum mic, inclusiv poliploidele, sînt radiorezistente. Legătura dintre numărul mic de corpuri cinetice nucleare și radiosensibilitatea ridicată se explică prin tulburările mari care se produc în compoziția nucleelor filiale datorită restructurărilor cromosomice, avînd ca rezultat moartea celulelor. Pentru că nucleul vătămat nu alterează integritatea celulelor în repaus și tulburările se manifestă îndeosebi

Scanned with OKEN Scanner

o dată cu diviziunea mitotică a celulei, este clar că efectul genetic al radiațiilor începe să devină aparent biologic în timpul mitozei, cînd se produce și o purificare a țesutului de leziunile radioactive prin moartea celulelor cu nucleul distrus și înlocuirea lor cu celule normale. Este pe deplin explicabil faptul că în cazul prelungirii ciclului celular, mecanismul de purificare acționează mai lent iar iradierea cronică determină o acumulare de leziuni nucleare. Factorii de mediu acționează intens asupra modificării radiosensibilității organismelor prin intermediul modificării vitezei diviziunii celulare.

Așadar, radiațiile produc leziuni în funcție de: 1) doză; 2) timpul în care doza este administrată* (intensitatea și durata iradierii); 3) tipul radiației ionizante; 4) viteza diviziunii celulare și 5) reversibilitatea leziunilor genetice.

În lumina celor arătate este evident că în cazul iradierii unei populații de plante vor fi afectate în cea mai mare măsură celulele germinale, dată fiind radiosensibilitatea crescută din timpul meiozei. Aceasta din cauză că meioza este caracterizată prin următoarele particularități: a) volumul nucleului se mărește sensibil; b) ciclul celular se încetinește brusc în această perioadă și în asemenea măsură, încît la unele specii e nevoie de doi ani pentru ca celulele germinale să se matureze după meioză; c) încrucișarea reciprocă din meioză a perechilor de cromosomi conjugați care determină în compoziția nucleului nu numai restructurări asemănătoare celor din mitoza somatică, ci și inversiuni, așa cum se produc pe neobservate în mitoza obișnuită.

Semnificația acestui substrat genetic al reacției diferitelor specii de plante poate fi ilustrată prin următorul exemplu. Din cauza marii dimensiuni a nucleului său, pinul *(Pinus)* face parte din plantele cu maximă radiosensibilitate (apreciată prin acțiunea radiațiilor asupra organelor vegetative). Totodată, datorită intervalului lung dintre meioză și maturarea polenului, celulele germinale ale pinului au o și mai mare radiosensibilitate.

5. Influența factorilor mediului asupra efectelor genetice ale radiațiilor și problemele de protecție a eredității

Efectul radiogenetic depinde de numeroși factori ai mediului intern și extern, el putînd fi sau potențat (întărit), sau inhibat (prin acțiunea protectoare a factorilor de mediu).

Starea fiziologică a celulei are o importanță considerabilă asupra gradului de lezare a nucleului prin radiații ionizante. O analiză amănunțită la drosofila a arătat că diferitele stadii în dezvoltarea celulelor germinale se deosebesc net în ce privește radiosensibilitatea genetică. La mamifere, celulele sexuale mascule trec printr-un șir de stadii de dezvoltare. Celulele germinale inițiale poartă numele de spermatogonii *A*. Ele reprezintă o rezervă pentru spermatogeneza continuă. Într-o serie de diviziuni, spermatogoniile *A* trec în stadiul de spermatogonii active sau spermatogonii *B*. Acestea din urmă se transformă în spermatocite, în care au loc importantele procese de meioză care duc la încrucișarea reciprocă și reducerea numărului de cromosomi și apoi la formarea spermatidelor cu număr haploid de cromosomi. Spermatidele se transformă în sper-

* Sau debitul dozei.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

matozoizi, proces prin care se încheie ciclul spermatogenezei. În aceste transformări succesive ale celulelor germinale, spermatogoniile de tip *B* sînt deosebit de radiosensibile şi se pot pune în evidenţă tulburări provocate chiar de doza de 5 r. O doză de cîteva zeci de roentgeni determină distrugerea spermatogoniei de tip *B* şi sterilitatea temporară a masculilor. Dimpotrivă, spermatogoniile de tip *A* se disting printr-o excepţională radiorezistenţă; astfel, la drosofila ele rezistă şi la iradierea cu doza de 10 000 r. În dezvoltarea spermatocitelor diferitele stadii ale meiozei se caracterizează printr-o sensibilitate radiogenetică specifică. Prin metoda iradierii se poate stabili durata în ore atît a spermatogenezei, cît şi a diverselor sale stadii, inclusiv a diferitelor faze ale meiozei. Toate acestea sînt datorită faptului că dozele mici omoară spermatogoniile de tip *B* şi întreruperea temporară consecutivă a spermatogenezei permite urmărirea succesiunii diferitelor stadii şi a duratei lor. În tabelul 12 este prezentată durata spermatogenezei şi durata stadiilor meiozei (la maimuţă).

Tabelul 12

DURATA STADIILOR SPERMATOGENEZEI LA MAIMUŢĂ

Stadiile	Durata în ore
1) Spermatogonii:	
A	761,1
B	143,8
2) Fazele meiozei în spermatocite:	
preleptonema	32,8
leptonema	38,5
zigonema	47,4
pahinema	253,7
diplonema	22,3
diakinaza + metafaza	13,2
3) Spermatogeneza	369,1
Total	1 682

Dispunînd de un asemenea material, se poate studia radiosensibilitatea oricărui stadiu al meiozei, deoarece, cunoscîndu-se timpul care a trecut din clipa iradierii, se poate afla stadiul în care s-a făcut iradierea. O asemenea analiză la maimuţă a permis stabilirea frecvenţei apariţiei restructurărilor cromosomice pentru diferitele faze ale meiozei. Analiza comparată a stadiilor meiotice corespunzătoare a arătat că la şoareci acestea sînt de două ori mai puţin radiosensibile (tabelul 13).

Tabelul 13

RADIOSENSIBILITATEA CITOGENETICĂ A CELULELOR GERMINALE COMPARATĂ ÎN DIFERITE FAZE ALE MEIOZEI LA MAIMUŢĂ ŞI ŞOARECE. DOZA DE IRADIAŢIE 100 r

	Procentul de celule cu restructurări cromosomice				
	Diplonema	Pahinema tîrzie	Pahinema mijlocie	Zigonema	Leptonema
Maimuţă	37,18	20,98	11,56	10,91	5,41
Şoarece	13,76	11,56	7,29	14,89	14,84

Scanned with OKEN Scanner

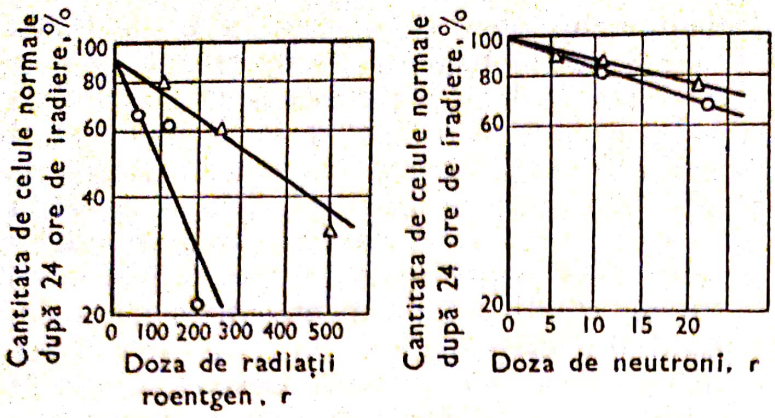


Fig. 126. Acțiunea radiațiilor Roentgen și a neutronilor asupra celulelor tumorale (ascitice) ale șoarecilor în cazul iradierii în aer (Δ) și în atmosferă de azot (O).

Dintre factorii de mediu care modifică profund intensitatea acțiunii radiațiilor ionizante, primul loc revine așa-numitului efect al oxigenului. Prezența oxigenului agravează simțitor efectul vătămător al radiațiilor gamma și Roentgen. În lipsa oxigenului, radiosensibilitatea celulei vii scade. Efectul oxigenului este maxim în cazul în care acesta are o concentrație egală cu cea din atmosferă (21% oxigen).

Creșterea peste această limită a concentrației oxigenului nu mărește efectul radiațiilor gamma și Roentgen. De regulă, în cazul iradierii celulelor într-un mediu fără oxigen (în azot), radiorezistența lor crește de două-trei ori. Efectul oxigenului se caracterizează printr-o uimitoare universalitate. El se manifestă la iradierea celulelor canceroase la șoareci, în cazul producerii de restructurări cromosomice în rădăcina de ceapă, la supraviețuirea animalelor, plantelor și bacteriilor iradiate, precum și la apariția de mutații la șoarece, drosofila, orz, bacterii și în alte multe cazuri.

Această acțiune universală a oxigenului în cele mai diferite reacții radiobiologice arată că prezența lui modifică procesele radiochimice. Același lucru îl atestă și efectul oxigenului în cazul iradierii acidului dezoxiribonucleic deshidratat, cînd nu se formează radicali liberi $OH^{\cdot}$ și $H^{\cdot}$. Prezența oxigenului modifică procesele chimice provocate de iradiere în cromosom. Acțiunea prezenței oxigenului este dependentă și de tipul radiației folosite. S-a arătat că pe măsură ce scade energia radiației, scade și dependența efectului genetic de prezența oxigenului. Astfel, la analiza ruperilor cromatidice în polenul de *Tradescantia* s-a constatat că în anoxie (în lipsa oxigenului) efectul radiației gamma scade cu 59%, al radiației Roentgen cu 42%, iar al neutronilor rapizi cu 33%. Efectul radiațiilor alfa nu se modifică prin îndepărtarea oxigenului (fig. 126).

Efectul radiațiilor ionizante depinde și de influența altor factori ai mediului. S-a arătat că acțiunea radiațiilor este mai mare la temperaturi joase. Iradierea prealabilă cu radiații infraroșii intensifică efectul genetic al radiațiilor ionizante. Iradierea cu ultraviolete după iradierea Roentgen reduce frecvența modificărilor cromosomice. Numeroși factori chimici modifică de asemenea efectul acțiunii radiațiilor ionizante asupra structurilor ereditare. S-a demonstrat că la iradierea semințelor și polenului frecvența radiomutațiilor depinde în mare măsură de conținutul în apă. La spermatozoizii drosofilei tratați cu formaldehidă crește numărul de mutații letale. Același efect îl are și acidul cianhidric.

Posibilitatea de scădere a efectului radiogenetic prin tratarea cu agenți fizici sau chimici a unui țesut sau a organismului întreg ne apropie de rezolvarea problemei protecției eredității împotriva radiațiilor.

Scanned with OKEN Scanner

Am văzut că procesele care duc la apariţia leziunilor primare ale cromosomilor sînt foarte complicate. La fel de complexe sînt şi procesele radiochimice secundare, ca şi relaţia lor contradictorie cu condiţiile mediului intra- şi extracelular. Toate acestea creează mari piedici în elaborarea principiilor protecţiei chimice a ereditǎţii împotriva radiaţiilor ionizante. Protecţia ca atare poate avea loc numai în momentul lezării primare a cromosomilor şi în cursul realizării proceselor care duc la apariţia mutaţiilor şi care pot fi oprite sau chiar îndreptate în sens invers de restabilirea structurilor originare nemodificate. După încheierea proceselor care duc la apariţia mutaţiilor genice sau a restructurărilor cromosomice, protecţia chimică sau orice altă protecţie îşi pierde semnificaţia. O dată încheiate, mutaţiile reprezintă modificări stabile, practic ireversibile, a căror natură poate fi modificată numai pe calea apariţiei unor noi însuşiri.

În prezent sînt cunoscute cîteva căi prin a căror folosire se poate apăra într-o oarecare măsură ereditatea de acţiunea radiaţiilor. În primul rînd s-a descoperit că energia absorbită de moleculele cromosomilor poate să migreze spre moleculele substanţelor protectoare introduse în celulă. Ca urmare a transferului energiei în condiţiile unei anumite doze de radiaţie, numărul moleculelor lezate din cromosomi se reduce. Leziunile se extind de la moleculele cromosomului la moleculele substanţei protectoare. Migraţia energiei este principalul mecanism de protecţie împotriva acţiunii directe a radiaţiei. Se ştie că unele substanţe protectoare, ca de pildă cisteamina (derivat al unui aminoacid), streptomicina (antibiotic) şi altele formează complexe cu moleculele de ADN. În condiţiile acestor complexe, energia absorbită de molecula de ADN migrează în molecula complexului, şi anume în substanţa protectoare, lezînd-o. Un al doilea mecanism important de protecţie îl constituie îndepărtarea din celulă a unei părţi din oxigenul existent în ea (hipoxie). Hipoxia micşorează efectul vătămător al radiaţiei. Acest mecanism este legat de acţiunea unor substanţe introduse în celulă care fixează chimic oxigenul creînd în celulă condiţii de hipoxie. Această fixare a oxigenului în celula vie se poate obţine prin introducerea hiposulfitului şi a altor cîteva substanţe.

Al treilea mecanism principal de apărare în celula vie îl constituie procesele naturale de refacere, care lichidează leziunile suferite. Aşa, de pildă, asupra însănătoşirii bacteriilor acţionează puternic temperatura la care sînt păstrate după iradiere. Temperatura cea mai favorabilă pentru creşterea bacteriilor este de 37°C. Totuşi, în cazul păstrării bacteriilor după iradiere la 37°C şi la 6°C rezistenţa lor este mai mică decît în urma menţinerii lor la temperatura de 18°C. Rezistenţa bacteriilor la iradiere creşte prin adăugarea unor substanţe în mediul lor de dezvoltare. În cazul iradierii protozoarelor, s-a stabilit că întîrzierea mitozei duce la accelerarea proceselor de restabilire.

În sfîrşit, cel de-al patrulea mecanism de apărare a moleculelor cromosomilor împotriva acţiunii vătămătoare a radiaţiilor este fixarea de către moleculele compuşilor protectori a radicalilor liberi formaţi în cursul radiolizei apei. Majoritatea combinaţiilor organice intră în reacţie cu radicalii $OH^{\cdot}$, $H^{\cdot}$ (sau $HO_2^{\cdot}$) şi reduce astfel numărul de radicali liberi în stare să altereze moleculele cromosomilor. Desigur, acest mecanism de apărare este util în cazul unei acţiuni indirecte a radiaţiilor.

Rezolvarea problemelor legate de protecţia chimică împotriva acţiunii radiaţiilor are o mare însemnătate ştiinţifică şi practică. Sub raport ştiinţific, folosirea protecţiei chimice contribuie la lămurirea principalelor mecanisme

Scanned with OKEN Scanner

ale radioleziunilor. Din punct de vedere practic, elaborarea unor mijloace perfecte de protecție chimică ar putea lărgi în multe privințe sfera de folosire a energiei atomice în medicină, tehnică, știință și agricultură.

6. Acțiunea radiațiilor asupra eredității omului

Pătrunzînd în celulele germinale ale omului, radiațiile ionizante provoacă aci modificări ale structurilor moleculare ale cromosomilor. Aceste modificări se bazează pe procese radiochimice complexe a căror desfășurare poate fi modificată prin acțiunea atît a unor condiții intracelulare, cît și a unor factori externi. Prin folosirea protecției chimice sau prin înlesnirea proceselor de refacere naturală, o parte a acestor modificări pot fi împiedicate înainte de încheierea lor, ceea ce face posibilă restabilirea structurilor normale inițiale. Totuși, în toate cazurile în care aceste procese radiochimice se desfășoară, apar modificări constante ale structurii chimice a cromosomilor, modificări care se transmit generațiilor următoare, deoarece interacțiunea dintre energia radiațiilor ionizante și structurile ereditare se realizează la nivelul atomilor și moleculelor. Pentru provocarea leziunilor nu există o doză *. Mutațiile pot apărea la orice doze, iar numărul cromosomilor lezați este proporțional cu doza. Pentru om, numărul mutațiilor din celulele sale germinale crește treptat în funcție de doza totală de radiație pe care o „acumulează" progresiv din clipa în care a fost conceput și pînă la încetarea capacității sale de procreare.

Mutațiile care apar în celulele germinale ale omului tulbură procesele de dezvoltare normală și de aceea reprezintă deviații ereditare dăunătoare. Studiul patologiei ereditare la om a arătat că numeroase boli ereditare sînt rezultatul mutațiilor.

Frecvența apariției naturale a mutațiilor și influența lor asupra viabilității indivizilor și vieții populațiilor are un caracter diferit în funcție de specie. De aceea, la analiza radiomutagenezei e necesar să cunoaștem nu numai numărul absolut al mutațiilor la specia respectivă în cazul acțiunii unei anumite doze, ci și corelația lor cu mutageneza naturală. Mărimea cu ajutorul căreia poate fi stabilită această corelație este doza care dublează numărul mutațiilor ce apar în mod natural.

Cu toate că procesele mutagene sînt complexe și se realizează în funcție de stadiul de dezvoltare a individului, ele își găsesc expresia în numărul final de mutații din gameți (spermatozoizi și ovule). De aceea, în cazul acțiunii radiațiilor asupra gameților putem afla cu exactitate ce doză de radiație este capabilă să dubleze numărul de mutații din gameți. Nu încape îndoială că radiațiile provoacă diferite efecte genetice atunci cînd acționează asupra gameților omului. Vom da ca exemplu obținerea de mutații la om sub acțiunea radiațiilor ionizante.

În Franța a fost descris cazul unui bolnav de cancer al testiculelor la care un testicul a fost înlăturat iar celălalt a fost iradiat cu o doză de 2 000 r. Cu toată iradierea masivă, fecunditatea s-a restabilit, totuși de trei ori embrionii au pierit înainte de naștere, iar o dată s-a născut un copil cu deficiențe fizice și mintale.

---

* Pentru orice radiație ionizantă există o doză care are energia și penetrabilitatea minimă necesară realizării unei acțiuni directe.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

În prezent, în mediul de viață al omului au loc numeroase modificări ca urmare a ritmului intens de introducere în industrie și în viața de toate zilele a tehnicii celei mai avansate. Una dintre principalele laturi ale acestor schimbări este creșterea nivelului de radiație ionizantă.

În fața radiogeneticii se pune o problemă de mare răspundere: să ofere o prognoză științifică asupra urmărilor biologice care sînt de așteptat de pe urma creșterii intense a nivelului de radioactivitate din surse artificiale, apărută ca o consecință a dezvoltării fizicii nucleare. Trebuie să mărturisim cu regret că această prognoză nu poate fi prea exactă, dat fiind că sînt încă prea puține date experimentale care să permită o apreciere obiectivă și precisă a eventualelor lezări ale ereditățiii omului. Nu putem însă renunța la o apreciere, fie și aproximativă, care să permită găsirea unei dirijări corecte și obținerea cîtorva coeficienți cantitativi. Datele unei asemenea aprecieri aproximative, în cazul în care am lua în considerare caracterul amplu al folosirii energiei atomice în zilele noastre, vor avea o importanță practică extrem de mare. În plus, cercetările în acest domeniu trebuie să stea la baza unor viitoare prognoze mai exacte și mai perfecționate.

În aprecierea efectului radiațiilor ionizante asupra ereditățiii omului trebuie să se țină seama de faptul că acțiunea unor doze mici devine periculoasă în cazul în care ele se extind la grupuri destul de mari de oameni, ca de pildă populația unor țări sau continente. Firește, vătămarea ereditățiii are loc și în cazul acțiunii cronice a unor doze mici de radiații asupra unor oameni sau grupe mici de populații, însă ea nu poate avea o influență hotărîtoare asupra ereditățiii viitoarelor generații ale omenirii în întregime, dată fiind frecvența redusă a apariției mutațiilor. De aceea, în aprecierea fenomenelor legate de folosirea energiei atomice, atenția trebuie să fie îndreptată în primul rînd spre factorii care duc la modificări ale radioactivității mediului, modificări care influențează întreaga omenire.

Unii autori minimalizează în chip vădit consecințele biologice ale acțiunii acestor factori, invocînd faptul că în generațiile viitoare numai o mică parte a omenirii va fi afectată de vătămarea ereditară. Însă chiar și un procent neînsemnat de astfel de vătămări înseamnă în cifre absolute un număr inadmisibil de mare de oameni cu boli ereditare. Date oficiale publicate de curînd în S.U.A. arată că nivelul radiației naturale în emisfera nordică a Pămîntului, egal cu 3 r de om, poate să crească într-o perioadă de 30 de ani cu 1 r.

Ce înseamnă o asemenea creștere a fondului de radioactivitate în cazul menținerii sale constante? În cazul în care 10 r dublează frecvența mutațiilor, adăugarea a 1 r va determina apariția de anomalii ereditare la 800 000 din 200 000 000 de oameni din fiecare generație viitoare. Pentru întreaga populație a globului, creșterea cu 1 r a fondului de radioactivitate de pe Pămînt la 2 750 000 000 de oameni va avea ca rezultat apariția în fiecare generație a circa 10 000 000 de oameni cu grave anomalii ereditare. O mare însemnătate are și apariția neoplasmelor actinice maligne, printre care și leucemia. Astfel, creșterea fondului de radiație în mediul ambiant al omului, chiar cu o fracțiune de Roentgen, amenință omenirea cu un mare număr de vieți schilodite.

Toate acestea arată importanța considerabilă a problemelor de radiogenetică. Totodată trebuie subliniat că elaborarea științifică a problemelor privitoare la pericolul radiațiilor ionizante pentru ereditatea omului este foarte complexă. În prezent s-a stabilit numai cît de mari pot fi aceste vătămări. Toate datele cantitative menționate mai sus au numai un caracter preliminar și de orientare.

Scanned with OKEN Scanner

Ele nu pot da o caracterizare cantitativă atotcuprinzătoare a efectului dăunător pe care îl au radiațiile ionizante asupra eredității omului. Aceasta nu micșorează însă importanța acestor date ca bază pentru o alarmă serioasă față de consecințele genetice care sînt de așteptat în cazul unei creșteri necontrolate a radioactivității în mediul înconjurător al omului.

Este necesar să arătăm că datele experimentale care pornesc de la calculul unei doze duble la om se bazează pe analiza restructurărilor cromosomice. Deși s-a arătat (vezi mai sus) că restructurările cromosomice sînt cauza apariției unui șir de boli atît naturale, cît și radioereditare la om, totuși nu încape îndoială că principala categorie de modificări ereditare este determinată de mutațiile genelor. Așadar, în viitor se cere o muncă serioasă pentru determinarea dozei duble pe calea analizei mutațiilor genice.

Totodată trebuie să se rețină faptul că restructurările cromosomice reprezintă un indiciu caracteristic al mutagenezei generale și că există o anumită corelație între mărirea numărului de restructurări cromosomice și mutațiile genice. Astfel, într-o analiză specială a acestei probleme, efectuată cu prilejul studierii mutațiilor letale recesive la drosofila, s-a constatat că în cazul măririi dozei de radiații Roentgen se produce o creștere paralelă atît a mutațiilor genice, cît și a restructurărilor cromosomice.

Cu toate divergențele de păreri în ce privește aprecierile cantitative ale efectului radiogenetic, ele demonstrează pericolul pe care-l prezintă creșterea nivelului de radioactivitate în mediul în care trăiește omul. Aceste aprecieri bazate pe recunoașterea inexistenței unei doze-prag contestă caracterul inofensiv pentru ereditatea omului a dozelor mici de radiații.

În prezent există toate condițiile pentru organizarea neîntîrziată a unor largi cercetări în vederea elaborării unei aprecieri exacte și documentate a acțiunii radiațiilor, în special în doze mici, asupra eredității omului. În legătură cu aceasta, prezintă o mare importanță studiul radiogeneticii mamiferelor, în special a maimuțelor, precum și studiul modificărilor citogenetice care au loc în culturile de țesuturi umane iradiate. Pentru reușita acestor lucrări este necesar, de asemenea, să se acumuleze fapte noi relative la natura și legitățile mutațiilor naturale și induse pe cale artificială la om, analiza structurii genetice a populațiilor și lămurirea formelor de transmitere în generațiile următoare a mutațiilor care condiționează la om diferite boli ereditare și alte anomalii.

Este limpede că în condițiile folosirii tot mai intense a energiei atomice și a cuceririi spațiului cosmic, lămurirea efectului genetic al dozelor mici de radiații devine una dintre problemele biologice extrem de complexe și de o deosebită importanță ale prezentului și viitorului.

BIBLIOGRAFIE

1. P. Alexander, *Atomic radiation and life*, Penquin books, 1958.
2. B. L. Astaurov, *Differențialnîi effect radiaționnîh povrejdenii iadra i țitoplazmî cac sledstvie ih funcționalnoi speținicinosti*. Biulleten Moscovscogo obșcestva ispît prirodî, *63*, I, 35, 1958.
3. Idem, *Priamoe docazatelstva iadernoi prirodî biologhicescogo effecta x-lucei i nezavisimosti cletocinîh posledstvii rentghenizații ot pervicinîh izmenenii țitoplasmî* în „Jurn. obșcei biologhii", *8*, 6, 431, 1947.
4. Idem, *Ioniziruiușcie izlucenia i nasledstvennost.* în „Priroda", 4, 5, 1962.

Scanned with OKEN Scanner

5. Z. M. Bacq, P. Alexander, *Fundamentals of radiobiology*, Pergamon-Press, Oxford-London-New-York-Paris, 1961.
6. A. M. Cuzin, *Ispolzovanie radioactivnîh izotopov v biologhii i selscom hoziaistve*, Moskva, Izd. „Znanie", 1956. *Ciba Foundation symposium on ionizing radiations and cell metabolism*, London, 1956.
7. N. P. Dubinin, *Problemî radiaţionnoi ghenetichi*, Gosatomizdat, Moskva, 1961. Idem, *V sb. Radiaţionnaia ghenetica*, Moskva, Izd-vo AN SSSR, 1962.
8. H. Fritz-Niggli, *Staglenbiologie Grundlagen und Ergebnisse*, 1959.
9. Idem, Symposium on radiobiology, The basis aspects of radiation effects of living system, Ed. by J. Nickson, 1952.
10. D. E. Grozdenschii, *Radiobiologhiia*, Gosatomizdat, Moskva, 1961.
11. Idem, *Itoghi nauchi* în „Biologhiceschie nauchi" nr. 3 Ioniziruiuşcie izlucenia i nasledstvennosti, Izd-vo An SSSR, Moskva, 1960.
12. Idem, *Itoghi nauchi* în „Biologhiceschie nauchi", I, Radiobiologhia. Radiaţionnaia ghenetica. Izd-vo An SSSR, Moskva, 1957.
13. D. E. Lea, *Action of radiation on living cells*, Cambridge at the university press, 1946.
14. Idem, *Radiation biology and Medicine*, Selected reviews in the life sciences. Addison-Wesley publishing company, inc.USA.1958.
15. Idem, *Immediate and Low Level Effect of Ionizing Radiation*, Ed. Taylor-Francis Ltd., London, 1960.
16. Idem, *Repair of Genetic Radiation Damage and Differential Radiosensitivity of Germ Cells*. Oxford-London-Pergamon-Press, 1963.
17. Idem, *Radiation Protection in Mammals*, Reinhold, 1962.
18. Idem, *Radiation Injury in Man. By Cronkite E.P.a. Bond B.P. Thomas*, 1960.
19. B. N. Tarusov, *Osnovî biologhicescogo deistvia radioactivnîh izlucenii*, Medghiz, Moskva, 1955.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL III

Dirijarea variabilităţii ereditare a organismelor

1. Mutaţiile şi integritatea sistemului ereditar al organismelor

Studiul fenomenelor fizice şi chimice din cromosomi a permis cunoaşterea mecanismului molecular al mutaţiilor. Faţă de vechile cercetări pe drosofila, porumb, mazăre şi alte organisme, cercetări care au servit la elaborarea bazelor teoriei clasice a eredităţii, cercetările asupra virusurilor şi microorganismelor au deschis o etapă nouă. Folosirea acestor sisteme vii simple a permis să se demonstreze rolul biologic al acizilor nucleici, să se descopere că informaţia genetică este înregistrată în structurile moleculare ale ADN-ului şi mai rar în ARN. S-a stabilit rolul ARN-ului ca transmiţător al informaţiei genetice de la structurile cromosomice dezoxiribonucleice spre centrele citoplasmatice de sinteză a proteinelor.

Lucrările din domeniul geneticii microorganismelor şi virusurilor au dus la concepţia nouă a dispoziţiei liniare a materialului genetic în cromosomi. S-a demonstrat că la baza ordinii liniare a înregistrării informaţiei genetice de-a lungul cromosomilor se află organizarea chimică specifică a moleculelor acizilor nucleici, legată de dispoziţia liniară de-a lungul catenei polinucleotidice a bazelor azotate. Specificul local al interacţiunii bazelor constituie punctul de plecare al diferenţierii cromosomului în genele care îl alcătuiesc. În lumina celor arătate, problema mutaţiilor se reduce la problema modificării organizării chimice în unele porţiuni ale filamentului cromosomic, adică la modificarea secvenţei bazelor azotate în molecula de ADN, la pierderea sau inserarea unora dintre ele. Putem oare, întemeiaţi pe cele arătate, să afirmăm că problema mutaţiilor se reduce la problema chimiei moleculelor de ADN? Pentru a răspunde la această întrebare, ne vom ocupa în continuare din nou de marea însemnătate a chimiei ADN-ului pentru problema mutaţiilor. Dar mutaţiile se desfăşoară în celula vie, specificul lor purtînd amprenta fiecărei specii. Latura biologică a mutaţiilor este de o extremă importanţă. Factorii care determină mutaţiile naturale sînt în mare parte proveniţi din celulă, sub forma apariţiei în interiorul ei a unor metaboliţi cu rol mutagen. Numărul mutaţiilor şi caracteristica lor calitativă sînt specifice pentru diferite specii şi diferitele lor populaţii. Desfăşurîndu-se la nivel molecular, mutaţia este în acelaşi timp un fenomen biologic. Biologia mutaţiilor spontane, naturale este determinată de interacţiunea biochimică dintre nucleu,

Scanned with OKEN Scanner

citoplasmă și mediul extern și, de aceea, factorii care provoacă modificări moleculare în cromosomi nu acționează în mod simplu și direct asupra moleculelor de ADN, ci prin intermediul organizării biologice supramoleculare a cromosomilor.

Organizarea biologică a cromosomilor organismelor superioare are la bază asocierea materialului genetic reprezentat de moleculele de ADN cu proteine negenetice, dar întotdeauna caracteristice pentru structura cromosomilor. Structura biologică reală în a cărei compoziție intră ADN-ul și care transmite informația genetică specifică este o nucleoproteidă, alcătuită din molecule de ADN și din proteine. O manifestare remarcabilă a unității vieții pe Pămînt o constituie faptul că la toate formele vii ereditatea este legată de organizarea acizilor nucleici. Totuși, pentru înțelegerea funcției eredității și a modificărilor ei, o importanță tot atît de mare o prezintă faptul că de la om la microorganisme, structurile ereditare se formează prin combinarea acizilor nucleici cu proteinele. La bacterii și la virusuri, ADN-ul și, în unele cazuri, ARN-ul capătă o mare independență prin faptul că legătura lor cu proteinele nu mai este atît de strînsă.

Problema organizării structurilor ereditare se rezolvă cu deosebit succes în primul rînd la nivel molecular, pe calea studierii fizicii și chimiei moleculelor de ADN și ARN; în al doilea rînd prin studiul microscopic al structurii cromosomilor (uneori și cu folosirea microscopului electronic); iar în al treilea rînd, pe calea analizei chimice a părților componente ale cromosomului.

O lacună serioasă în cunoștințele noastre privitoare la problema naturii structurilor ereditare o constituie însă faptul că nu au fost clarificate principiile de bază ale organizării concrete a cromosomilor atît în ce privește structurile supramoleculare, cît și cele biologice. Analiza chimică arată că cromosomii nucleelor din celulele și țesuturile animale sînt alcătuiți în proporție de 90% din compuși ai ADN-ului cu proteine, mai ales de tipul histonelor *, iar în rest din ARN și fosfolipide. Cum sînt dispuși acești compuși în interiorul cromosomilor? Cercetările de microscopie electronică au pus în evidență existența în cromosomi a unor filamente cu diametrul de 200 Å. Însă filamentele elementare, adică lanțul polipeptidic unit cu o moleculă bicatenară de ADN ar trebui să aibă un diametru de zece ori mai mic. În acest sens rămîne încă nelămurit mecanismul mutațiilor la nivel molecular, în cadrul organizării cromosomice.

Mutațiile apar prin modificarea unui lanț molecular polinucleotidic izolat. Cum devin ele însușiri ale structurii cromosomice supramoleculare formate din numeroase filamente moleculare de acest fel? Care este baza structurală a organizării cromosomului: proteina sau ADN-ul? Luată în ansamblu, problema unității dintre structura moleculară și funcția ei biologică este de însemnătate primordială pentru întreaga biologie moleculară.

S-a arătat că lumina ultravioletă cu lungime de undă de 2 650 Å absorbită de acizii nucleici determină restructurări cromosomice. Aceasta dovedește că ADN-ul ar putea avea un rol important în scheletul cromosomului. În unele celule există cromosomi care au fost numiți în „perie de lampă"** datorită formei lor caracteristice. Acești cromosomi nu sînt distruși cînd sînt tratați cu ribonuclează, enzimă care descompune ARN-ul, și nici cu protează, care descompune proteinele.

---

* Histonele sînt proteine care au un procent mare de diaminoacizi (arginină și lizină). Izolate, histonele au masă moleculară mică și o reacție intens alcalină.—*N.R.*

** *Lampbrush cromosome* = cromosom în perie de lampă (în limba engleză). Cromosom gigant în oocitele unor urodele.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Pe de altă parte, tratarea cu dezoxiribonuclează, care descompune ADN-ul, determină și distrugerea cromosomilor. S-a demonstrat că pentru legăturile intracromosomice un rol determinant îl au ionii metalici de calciu (Ca^{++}) și magneziu (Mg^{++}). În cazul eliminării lor parțiale din cromosomi se produce restructurarea acestora.

Organizarea complexă a cromosomilor și, în primul rînd, prezența obligatorie în compoziția lor a proteinelor are, fără îndoială, o deosebită însemnătate biologică. Deocamdată nu știm nimic despre corelația dintre ADN și proteine în structura filamentului care formează materialul genetic. Oare acest filament este neîntrerupt și alcătuit numai din molecule de ADN? O astfel de structură este caracteristică pentru virusuri, la care acizii nucleici ocupă centrul particulei, iar proteina reprezintă învelișul acestora — capsida. Nu cumva proteina din cromosom face parte chiar din filamentul genetic subîmpărțindu-l? Fără îndoială că proteina are funcție de protecție, preluînd asupra ei energia factorilor mutageni chimici și fizici. S-ar putea ca proteina să aibă rol stabilizator participînd la procesele de refacere a modificărilor genetice începute, dar neterminate. Într-o anumită formă, proteina trebuie să joace rol și în fenomenele de autoreproducere a structurilor cromosomice. Este neîndoielnic că la schimbul de substanțe dintre materialul genetic, citoplasmă și mediul extern participă complexul de ADN și proteină, nucleoproteida. Toate acestea arată complexitatea și caracterul contradictoriu al mutațiilor. În plus, trebuie avut în vedere faptul că efectul unei modificări în materialul genetic nu se manifestă imediat, ci dimpotrivă, orice modificare se încadrează în sistemul complex al organismului acționînd multilateral asupra întregii sale dezvoltări.

Ca urmare, problema dirijării eredității plantelor, animalelor, microorganismelor și virusurilor se arată a fi extrem de complicată. Pentru a realiza modificarea dirijată a eredității la nivel molecular, trebuie să se țină seama de importanța metabolismului în care sînt angrenate celula și organismul întreg.

Dirijarea variabilității ereditare întîmpină greutăți însemnate datorită mecanismelor complexe prin care materialul genetic influențează fiziologia celulară. Am arătat mai sus că la nivelul unor gene complexe, pe o porțiune mică a cromosomului, există un sistem discontinuu de unități legate din punct de vedere biochimic și fiziologic. În prezent s-au descoperit mecanisme complicate de reglare a sintezei proteinelor, mecanisme care acționează modificînd informația genetică a moleculelor de ARN-i.

Am arătat mai înainte că sinteza enzimelor celulare este programată de genele localizate în cromosomi prin moleculele de ARN-i care în ribosomi servesc ca matriță la formarea moleculei de proteină. Genele care programează sinteza proteinelor au căpătat denumirea de gene structurale. S-a stabilit că încă din momentul sintezei moleculelor de ARN-i, formarea proteinei se află sub un dublu control. Paralel cu acțiunea genelor structurale, sinteza proteinelor este controlată de un sistem de gene funcționale specializate, denumite gene reglatoare și operatoare, care controlează viteza sintezei proteinelor.

Descoperirea celei de-a doua trepte a controlului genetic asupra biosintezei proteinei a fost posibilă prin analiza fenomenelor de represie și inducție în reglarea sintezei enzimelor. Enzimele din celula microbiană se împart în constitutive și induse.

Prin enzime constitutive se înțelege grupul de enzime prezente în permanență, a căror sinteză nu necesită nici o inducție externă vizibilă. Enzimele induse apar numai la pătrunderea în celulă a unei anumite substanțe inductoare

Scanned with OKEN Scanner

capabile să determine sinteza unei enzime specifice. Inducția sintezei enzimelor reprezintă așa-numita adaptare enzimatică.

Esența acestui fenomen constă în faptul că celulele microbiene, ajungînd într-un mediu care conține o anumită substanță pe care ele nu sînt capabile s-o folosească datorită lipsei activității enzimatice specifice, își adaptează sistemul enzimatic, restructurîndu-l. Un exemplu de astfel de adaptare enzimatică este dobîndirea de către celulele de drojdie a capacității de a asimila galactoza, capacitate pe care nu o au în condiții normale. De obicei, celulele de drojdie cresc în medii bogate în glucoză pe care o fermentează ușor. Dacă aceste celule sînt spălate de glucoză și transplantate într-un mediu lipsit de azot*, dar care conține galactoză, atunci ele, nedispunînd de galactozimază (enzima care permite folosirea galactozei) vor înceta să se mai înmulțească. Totuși, după o perioadă de latență (perioada de lag)** care durează cîteva ore, celulele încep să fermenteze galactoza. Rezultă că în timpul perioadei de lag, galactoza pătrunde în celulele drojdiei și induce sinteza unei noi enzime — galactozimaza — a cărei apariție este necesară tocmai pentru fermentarea acestui substrat, adică a galactozei. Vedem deci un remarcabil tablou de adaptare a sistemelor celulare la folosirea unui nou substrat apărut în mediu (în cazul de față galactoza). S-a arătat că enzimele noi care se formează prin inducție ca adaptare enzimatică se sintetizează *de novo* din rezerva de aminoacizi liberi existenți în celulă.

Un fenomen opus inducției este represia sintezei unei enzime. Prin represie se înțelege reducerea relativă a vitezei de formare a unei anumite enzime prin acțiunea unei anumite substanțe. Substanța care micșorează viteza de sinteză a enzimei a căpătat numele de represor. Sinteza enzimei care are loc în prezența represorului se numește sinteză reprimată. O trăsătură caracteristică a numeroase cazuri de represie este prezența unei conexiuni inverse în sensul că substanța care reprezintă produsul final al sistemului enzimatic dat se comportă ca represor, inhibînd continuarea sintezei. Așa de pildă, în lanțul de reacții care duc la sinteza argininei există reacția de formare a ornitinei (fig. 62), catalizată de acetilornitinază. Prezența argininei libere inhibă sinteza acetilornitinazei. Este clar că existența unui astfel de sistem de represie reprezintă un mecanism de reglare deosebit de important în viața celulei. Prin acest mecanism, în momentul în care arginina se găsește în mediul extern, în celulele colibacilului se poate reduce simțitor sinteza acetilornitinazei, devenită inutilă în aceste condiții prin cheltuiala de energie și de substanțe celulare.

Pînă nu de mult se părea că teza genetică a sintezei proteinelor întîmpină serioase dificultăți datorită fenomenelor de adaptare enzimatică. Însă tocmai învingerea acestor greutăți a servit la descoperirea unor laturi cu totul noi ale mecanismului biosintezei proteinelor.

Modul nou în care a fost abordată întreaga problemă a adaptării enzimatice a devenit posibil după descoperirea structurilor moleculare speciale care transmit informația genetică de la cromosomi spre centrele citoplasmatice de sinteză a proteinelor, adică după descoperirea mecanismului prin care genele localizate în cromosomi programează sinteza proteinelor. După cum am mai arătat, transmițătorii informației genetice de la cromosom la ribosom sînt moleculele de ARN-i. Aceste molecule s-au dovedit a fi destul de labile. Sub influența inductorilor și represorilor, moleculele de ARN-i modifică procesul de biosinteză a

---

* E necesar ca mediul să nu conțină compuși organici azotați din care drojdia poate sintetiza glucoza.—*N.R*

** *Lag* = întîrziere (în limba engleză).—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

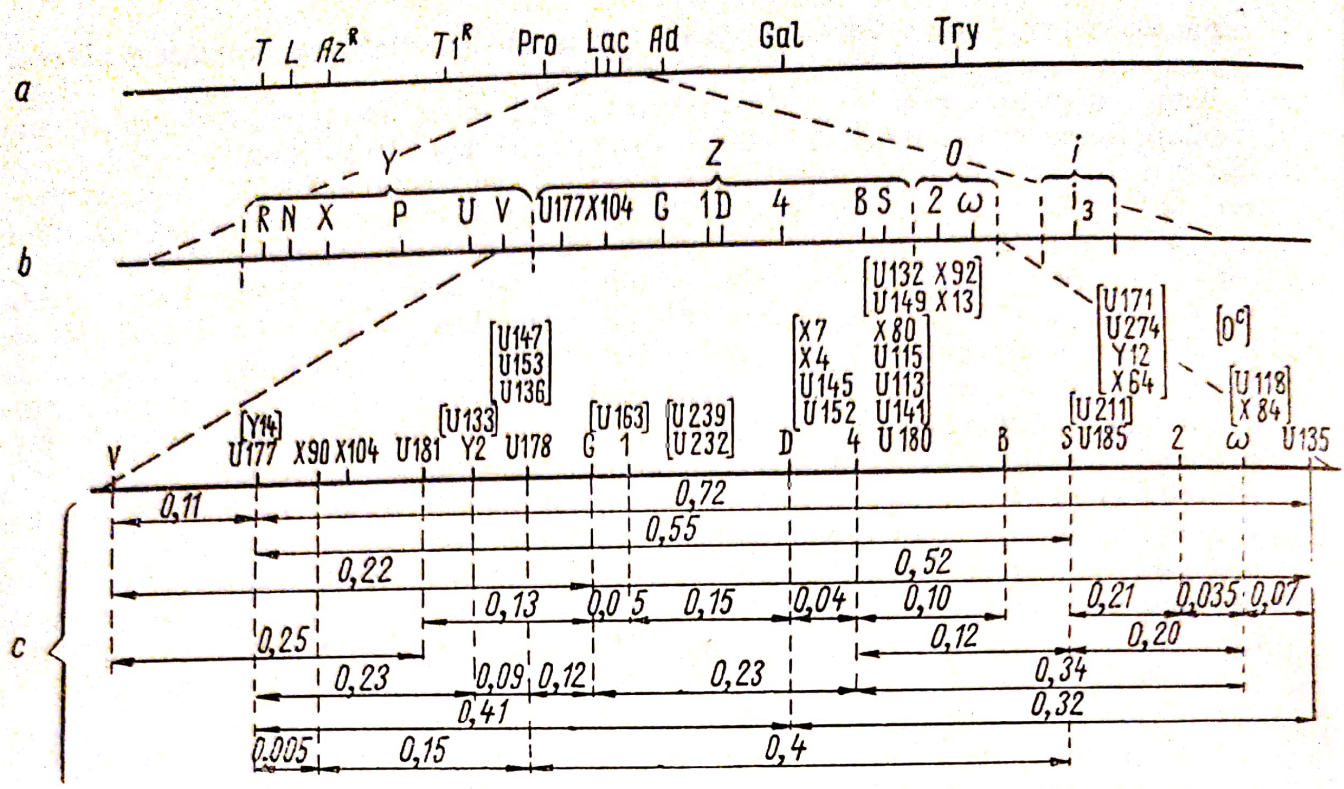


Fig. 127. Harta genetică a locusului lactozei la *Escherichia coli*:

a — o parte a hărții genetice a cromosomului celulei *E. coli* incluzînd locusul lactozei (*Lac*); *b* — sublocusurile (*Y*, *Z*, *O*, *i*) care intră în structura locusului lactozei cu subdiviziunile lor; *c* — harta genetică a sublocusurilor *Z* și *O* cu indicarea, sub forma de procente de recombinări, a distanțelor dintre difritele microlocusuri. Lungimea totală a sublocusului (genei) *Z* care programează sinteza fermentului — galactozidaza, egală cu 0,7% din harta genetică, locusul conținînd circa 3 500 de nucleotide ADN.

proteinelor. Tocmai pe aceste căi fenomenul de adaptare enzimatică și-a găsit o explicație genetică. Mai mult decît atît, analiza mecanismului genetic a acestui fenomen a servit la descoperirea unui nou nivel în organizarea complexului genetic care reglează sinteza proteinelor în celula vie.

Această problemă a fost cercetată pe sistemul genetic care determină apariția enzimelor care descompun lactoza la colibacil *. În fig. 127 *a* este reprezentată o parte a hărții genetice a cromosomului colibacilului în care se vede poziția regiunii studiate (*lac*-lactoză) printre alte locusuri. În rîndul al doilea (fig. 127 *b*) se arată structura genetică a regiunii lactozei care conține patru sectoare: *Y*, *Z*, *O* și *i*. Mai jos (fig. 127 *c*) sînt reprezentate distanțele dintre regiunile *Y* și *O*, distanțe stabilite prin studiul recombinărilor. Lungimea totală a zonei *Z* este egală cu 0,7 unități de recombinare. Ea constă din peste 3 500 de perechi de nucleotide și asigură sinteza enzimei β-galactozidaza, care conține peste 1 000 de aminoacizi.

Analiza genetică a arătat că dacă prezența genei Z^+ asigură sinteza enzimei active β-galactozidaza**, mutațiile acestei gene — Z^- — duc la pierderea ei. Dar prin simpla prezență a β-galactozidazei în celula vie a colibacilului nu sînt asigurate toate condițiile necesare pentru folosirea lactozei. Mai este necesar ca lactoza să pătrundă în celulă și să determine inducția β-galactozidazei. Permea-

* Lactoza este un dizaharid format dintr-o moleculă de glucoză și o moleculă de galactoză. Galactoza e legată de glucoză prin atomul de carbon 1 (din cei 6), adică printr-o legătură ozidică; lactoza este deci galactozid-glucoză.—*N.R.*

** β-galactozidaza (= lactaza) hidrolizează lactoza în galactoză și glucoză.—*N.R.*

bilitatea pentru lactoză a membranei celulare este asigurată de acțiunea genei Y^+. Mutațiile acestei gene — Y^- — duc la pierderea posibilității de captare a lactozei din mediu. Odată cu aceasta, aproape toți mutanții de acest tip pierd capacitatea de sinteză și a acetilazei *. Alelele genei i (i^+ și i^-) sînt constitutive, adică de ele depinde sinteza atît a galactozidazei, cît și a acetilazei, în prezența (i^+) sau în absența (i^-) inductorului. Structura și celelalte proprietăți genetice ale locusului lactozei în cromosomul colibacilului au fost amănunțit studiate la heterozigoți prin urmărirea mutațiilor în structurile diploide. Aceasta a fost posibil prin descoperirea tulpinilor de colibacil care au în mod constant diploidie parțială. Chiar de la analiza recombinărilor am văzut că fragmentul de cromosom intrat prin puntea citoplasmatică dintre bacteriile conjugate, sau introdus de fag prin transducție, realizează în celulă o diploidie temporară. Lucrări mai noi însă au descoperit fenomenul sexinducției prin care s-a obținut pentru porțiuni mici ale cromosomului clonuri stabile, în parte diploide, iar în parte chiar poliploide. În cazul sexinducției, se introduc porțiuni mici din cromosom corespunzătoare locusului care determină proprietățile sexuale feminine ale celulei (locusul F). Ca urmare, aceste porțiuni se adaugă la gena normală a bacteriei și, dat fiind că o porțiune analogă există la locul său normal, celula bacteriană și clonul care se formează din ea devin diploide pentru această regiune. Printre clonurile parțial diploide s-a descoperit și un clon** diploid în zona corespunzătoare lactozei, ceea ce a permis să se studieze și diferite structuri heterozigote ale acestei zone. S-a descoperit că mutațiile lac^- sînt recesive ***:

O trăsătură remarcabilă ce caracterizează mutațiile locusului i este aceea că ele afectează două enzime, fiecare fiind programată de o genă structurală independentă (Z^+ și Y^+). Raportul cantitativ dintre galactozidază și acetilază în astfel de celule constitutive**** este egal cu cel caracteristic celulelor din tulpina sălbatică de *Escherichia coli*, la care dezvoltarea enzimelor se produce prin inducție. Tipul inductiv de bacterii (gena i^+) este dominant față de cel constitutiv (i^-) *****. Toate acestea arată că mutațiile genei i privesc anumite elemente citoplasmatice capabile să controleze acțiunile a două gene independente sub formă de gena Z și gena Y. Prin urmare, gena Y^+ programează în celulă formarea represorului care nu permite desfășurarea celor două sinteze independente ale galactozidazei și acetilazei. Datele experimentale arată că acest represor este un poliribonucleotid programat de gena i^+, ca produs primar al său. Astfel, gena i^+ are o funcție specifică în sinteza proteinelor. Ea nu poartă o informație structurală ca genele Z și Y care programează sinteza proteinelor cu o anumită structură (secvență) a aminoacizilor din enzimele galactozidază și acetilază.

---

* Pentru utilizarea lactozei e nevoie de trei enzime: β-galactozidaza sau lactaza și două enzime care asigură pătrunderea lactozei prin membrana celulară — o permează și o acetilază. — *N.R.*

** Clon = mlădiță, ramură, urmaș.

*** Lipsa sintezei enzimelor necesare utilizării lactozei (lac^-) este un caracter recesiv în clonul diploid parțial pentru locusul lac și deci lipsa de sinteză nu se produce decît în clonul diploid parțial în care amîndouă locusurile omologe sînt lac^- (în clonul diploid parțial homozigot).

La colibacilul normal haploid, mutantul lac^- este incapabil de a sintetiza enzimele necesare utilizării lactozei. — *N.R.*

**** Celule constitutive, adică celulele mutante (clonul mutant) i^-, în care sinteza enzimelor se face în cantitate mare în absența inductorului (în absența lactozei).—*N.R.*

***** Tipul inductiv — tipul sălbatic = tipul normal, caracterizat prin alela i^+. În clonurile diploide pentru lac, alela normală i^+ a genei i este dominantă față de alela omologă i^- sau clonul haploid nu devine „constitutiv", nu sintetizează galactozidaza și acetilaza în absența inductorului decît dacă este homozigot $i^- i^-$; heterozigoții $i^+ i^-$ se comportă ca linia normală (sălbatică), adică nu sintetizează enzimele în cantitate mare decît în prezența inductorului.—*N.R.*

plasmă produsele lor primare. Acțiunea represorului ar putea fi legată nu de blocarea *funcțiilor* primare ale operatorului și a genelor structurale, ci de blocarea *produselor* lor primare. În acest caz, influența represorului se realizează la nivel citoplasmatic prin intermediul reacției sale cu produsele primare ale genelor O^+, A și B (fig. 128 *b*). Dacă interacțiunea dintre gena operatoare și genele structurale se realizează la nivelul citoplasmei, ea este legată, după cît se pare, de formarea unui anumit complex temporar din cele trei fracțiuni de ARN-i (complexul OAB, fig. 128 *b*). Această asociere temporară ar reprezenta o condiție a eficacității ARN-i al fiecăruia dintre genele structurale. În acest caz, influența substanței represor constă, după cît se pare, în faptul că ea blochează produsul primar al genei O^+ și nu dă posibilitatea să se formeze complexul temporar alcătuit din ARN-i, sintetizat pe operator și pe genele structurale (fig. 128 *b*). Cercetări viitoare vor scoate la iveală mecanismul concret al influenței represorului asupra funcțiilor genei operatoare. În oricare dintre cele două mecanisme posibile ale acțiunii represorului constatăm însă că regiunea cromosomului formată din gena operatoare (O^+) și din cele două gene structurale independente (Z^+ și Y^+) care determină sinteza a două proteine diferite în celulele colibacilului, și anume regiunea Y^+, Z^+, O^+ (fig. 127), se comportă ca un sistem unic în procesele de transmitere a informației de la nucleu la citoplasmă. Această unitate genetică de codificare asociată a primit denumirea de operon*.

Vedem astfel că în biochimia genetică a sintezei proteinelor s-a stabilit existența unui sistem dublu de dirijare. Latura calitativă în sinteza proteinei este hotărîtă de gena structurală. În cazul analizat, care se referă la porțiunea lac, gena Z determină sinteza β-galactozidazei și gena Y, sinteza acetilazei. În ce privește însă viteza cu care enzimele sînt sintetizate atît inductiv, cît și constitutiv, ea depinde de genele reglatoare și operatoare. Ceva mai mult, diferite grupe de gene structurale sînt asociate cu gene operatoare și reglatoare specifice, formînd grupări funcționale complexe sub formă de operoni.

Un sistem similar de control dublu a fost stabilit pentru genele care programează sinteza proteinelor și determină proprietățile sistemului lizogen la fagii temperați, precum și pentru unele gene structurale ale porumbului. Toate acestea arată că sinteza normală a proteinelor necesită, pe lîngă genele structurale, prezența unor sisteme genetice complexe, care să asigure reglarea acestor procese. Modificarea acestei reglări are o mare însemnătate pentru dezvoltarea diferitelor țesuturi și organe. Astfel, dezinhibiția genei operatoare are ca rezultat sinteza neîntreruptă a proteinelor pe care le programează genele structurale care fac parte din operonul respectiv. S-a arătat că unii mutanți cu gena operatoare dezinhibată (mutația O^-) sintetizează o cantitate foarte mare (pînă la 10% din totalul proteinelor) de proteină de un anumit tip. Aceasta duce la o alterare evidentă a activității biologice. Una din consecințele alterării sistemului genetic de sinteză a proteinelor poate fi pierderea controlului asupra înmulțirii celulelor, proces caracteristic proliferării maligne.

Astfel, analiza mecanismelor genetice care controlează sinteza proteinei demonstrează marea complexitate a acestor procese. Dirijarea proceselor biologice necesită nu numai o modificare orientată a structurilor ereditare, ci și obținerea unui astfel de efect al modificării ca întreaga dezvoltare a individului și a diferitelor sale proprietăți biochimice, fiziologice, morfologice ș.a. să fie armonioasă.

---

* Gena operatoare face parte din operon și nu este activă decît în poziție *cis* față de genele structurale, în schimb gena reglatoare nu face parte din operon și este activă și în poziție *cis* și și în poziție *trans*.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Dar oricît de dificilă ar fi această problemă în ansamblu, la baza rezolvării ei stă capacitatea de a modifica dirijat structura chimică a substanţelor care deţin în structurile lor moleculare codul informaţiei genetice. Numai după rezolvarea acestei probleme, dirijarea raţională a vieţii va căpăta bazele solide de care are nevoie pentru a fi realizată. Este neîndoielnic, dată fiind marea complexitate a problemei dirijării vieţii, că rezolvarea ei trebuie căutată în dirijarea structurii chimice a materialului genetic. Am arătat că la bacteriofag mutaţia are la bază modificări în 4—5 perechi de nucleotide din molecula de ADN. Aceleaşi principii de modificare a materialului genetic sînt specifice şi tuturor celorlalte vieţuitoare de pe pămînt. Am arătat, pe baza exemplului eritrocitelor falciforme la om, că forma deficitară a hemoglobinei este determinată de o mutaţie care, dintre sutele de aminoacizi ai hemoglobinei, vizează numai pe unul din ei, şi anume înlocuieşte acidul glutamic cu valina. În lumina datelor cu privire la codul genetic care programează sinteza proteinelor apare clar că unei asemenea mici modificări în proteina sintetizată îi corespunde o modificare identică în structura ADN-ului.

În prezent au fost elaborate modalităţi de dirijare a proceselor care duc la modificarea structurii chimice a ADN-ului. Mai sus, descriind transformarea, transducţia şi recombinarea, am analizat la bacterii şi la alte microorganisme modificarea dirijată a eredităţii. Însă în toate aceste cazuri am avut de-a face cu elemente ereditare gata constituite ale unor forme, elemente care erau transmise şi incluse în sistemele ereditare ale altor forme. În transformări, moleculele de ADN sînt transmise pe cale biochimică. În transducţii moleculele specifice de ADN sînt transmise de fag. În recombinări, regiuni întregi de cromosomi ajung într-o celulă străină în momentul conjugării bacteriilor, trecînd prin puntea citoplasmatică.

În principiu, toate aceste cazuri de transformare a eredităţii trebuie deosebite de intervenţia chimică în structurile moleculelor de ADN pe calea acţiunilor mutagene. După cum am văzut pe baza exemplului radiomutaţiilor, efectele mutagene nu au de obicei un caracter dirijat. În aceste cazuri, calitatea mutaţiilor depinde în primul rînd de locusul din cromosom care s-a modificat sub acţiunea energiei absorbite în celulă şi nu de caracteristica fizică a energiei însăşi. Avem în faţă tabloul unei variabilităţi ereditare nedirijate, obiectiv întîmplătoare. Înseamnă aceasta cumva o imposibilitate principială de a dirija variabilitatea ereditară la nivel molecular? Nicidecum. Într-o serie de cazuri de mutageneză asistăm la o dependenţă calitativă a proceselor moleculare ereditare de calitatea acţiunii. În sfîrşit, au fost găsite căi de acţionare directă prin metode chimice asupra moleculelor de ADN care duc la apariţia unor modificări calitativ determinate. În aceste cercetări încep să se întrevadă germenii unor viitoare mari înfăptuiri, care vor dezvălui metodele de dirijare a eredităţii la nivel molecular. În prezent, aceste probleme reprezintă conţinutul unuia dintre cele mai importante succese ale ştiinţei contemporane, care netezeşte drumul spre dirijarea vieţii pe pămînt.

2. Factorii fizici şi chimici care determină apariţia mutaţiilor

S-a arătat că diferitele tipuri de radiaţii ionizante provoacă un mare număr de mutaţii. Principalele tipuri de radiaţii folosite în cel mai înalt grad în experienţe şi în practica radioselecţiei sînt radiaţiile gamma şi neutronice.

Scanned with OKEN Scanner

Sursa de radiații gamma este de obicei cobaltul radioactiv (Co^{60}). Neutronii se obțin în reactoarele nucleare și în ciclotroni. Efectivitatea lor biologică este sensibil mai mare în comparație cu aceea a radiațiilor gamma. În plus, comparînd din punct de vedere calitativ efectul mutagen al radiațiilor gamma și al neutronilor, apar deosebiri caracteristice. Într-adevăr, neutronii cu transfer liniar de energie mai mare determină, de obicei, un număr relativ crescut de restructurări cromosomice în comparație cu numărul mutațiilor genice determinate prin radiația gamma. Specificitatea calitativă se vădește și în reacțiile diferitelor gene la acțiunea radiațiilor ionizante. La bacterii, de exemplu, numărul total de mutații care apar sub acțiunea radiațiilor gamma este în mod clar dependent de presiunea parțială a oxigenului din mediu. În acest caz, prin mutații se pune în evidență așa-numitul efect al oxigenului. Însă la aceleași bacterii, independent de streptomicină, numărul mutațiilor care apar în celulele a căror creștere reclamă adăugarea de streptomicină în mediu nu este legat de efectul oxigenului.

Pătrunzînd în organism, izotopii radioactivi devin surse interne de radiații ionizante. În afară de aceasta, trebuie să știm că proprietățile moleculei în care a pătruns izotopul radioactiv pot fi modificate nu numai datorită capacității sale de a ioniza, ci și în urma transformărilor atomice. Atomul nou își modifică valența și, prin aceasta, în procesul apariției sale eliberează energie. Deși această energie este mică în comparație cu energia radioactivă, totuși, în cazul includerii elementului radioactiv în moleculele ereditare, apar efecte mutagene. S-a demonstrat că elemente radioactive, cum sînt: cesiul —137, fosforul —32, sulful—35 tritiul (H_1^3), stronțiul—90 provoacă mutații. S-a stabilit rolul mutagen al tritiului asupra mamiferelor (șoareci). Dominante letale în spermatozoizii șoarecilor apar în 1% din cazurile în care s-a făcut încorporarea tritiului radioactiv în cromosomi. Există suficiente date care arată că eficiența încorporării elementelor radioactive este mai mare în comparație cu dozele analoge de iradiere externă. Faptul s-a demonstrat cu C^{14} care, introdus în celule vegetale, determină de 2—10 ori mai multe restructurări cromosomice în comparație cu aceeași doză de iradiere externă. Însemnătatea cercetărilor asupra efectului mutagen al izotopilor radioactivi este legată în primul rînd de efectul lor intramolecular. Astfel, fosforul 32, pătrunzînd în moleculele de ADN, ocupă poziții-cheie în scheletul polinucleotidului, integrîndu-se ca molecule de acid fosforic (fig. 11). Proprietățile infectante ale bacteriofagului, alterate în cazul pătrunderii fosforului 32 în ADN, sînt legate de ruperea scheletului polinucleotidului. În cazul transmutării izotopilor radioactivi în izotopi stabili, molecula capătă un nou element chimic. Printre aceste transmutații, un interes deosebit îl prezintă transformarea C^{14} radioactiv în azot stabil (N^{14}). Carbonul 14 pătrunde nu numai în scheletul polinucleotidului de ADN, ci și în toate bazele azotate, cu ajutorul cărora informația genetică este înregistrată în moleculele de ADN (fig. 11). Înlocuirea carbonului cu azot în interiorul bazelor poate să ducă la modificarea proprietăților chimice ale moleculei și a particularităților sale de autoreproducere. Analiza efectelor mutagene ale izotopilor radioactivi nu a înregistrat deocamdată progrese însemnate. Totuși această metodă oferă posibilități de studiere aprofundată a modificărilor chimice ale materialului genetic din punctul de vedere al modificărilor energetice și atomice ale moleculelor de ADN.

Pentru lămurirea naturii modificărilor moleculare în structurile ereditare ale organismelor are o mare importanță analiza acțiunii radiației ultraviolete.

Scanned with OKEN Scanner

O capacitate mutagenă maximă au radiațiile ultraviolete cu lungimea de undă de 2 650 Å*, care sînt absorbite selectiv de moleculele de ADN. În condiții obișnuite, radiațiile ultraviolete nu au efecte mutagene, deoarece pătrund foarte puțin în țesuturi. Dacă însă sînt iradiate celulele izolate de bacterii, sporii de ciuperci, grăunții de polen ai plantelor, radiațiile ultraviolete, pătrunzînd în ele, provoacă numeroase mutații. Spre deosebire de radiațiile ionizante, fotonii radiațiilor ultraviolete au energie redusă, de 3—5 eV. Energia acestor radiații nu provoacă ionizări, ci doar o excitare a moleculelor, ceea ce ulterior duce la modificarea lor chimică. Deosebirea esențială dintre efectul mutagen al radiației ultraviolete și al radiațiilor ionizante este lipsa efectului oxigenului în cazul acțiunii ultravioletelor. În general, efectul mutagen al radiațiilor ultraviolete se manifestă printr-un număr mai mic de restructurări cromosomice grosiere și printr-un număr mai mare de modificări chimice locale în cromosomi, adică de mutații ale genelor.

Unul dintre fenomenele remarcabile pus în evidență prin studierea mutațiilor induse de ultraviolete este fotoreactivarea. Dacă după ce au fost supuse acțiunii ultravioletelor, celulele sînt iradiate cu lumină vizibilă, un număr însemnat de mutații care ar trebui să apară nu se mai produc. Astfel, iradierea în spectrul vizibil, consecutivă celei ultraviolete, împiedică definitivarea proceselor fotochimice care ar duce la modificarea chimică a cromosomilor, reactivînd procesele mutațiilor neterminate. Acest fenomen de fotoreactivare a demonstrat limpede că între momentul absorbției de către molecula de ADN a energiei fotonului și modificarea chimică finală a cromosomului care duce la apariția unei modificări stabile (mutații) se află un lanț întreg de reacții intermediare.

Se pune problema dacă procesele care duc la definitivarea mutațiilor, ca și la reactivarea lor sînt pur intracromosomice sau au legătură cu metabolismul general al celulei. Experiențele au arătat că procesul mutagen este strîns legat de metabolismul celular. Faptul a reieșit limpede din fenomenele fotoreactivării mutațiilor. Astfel, studiindu-se acțiunea luminii asupra moleculelor de ADN, care la bacterii au capacitatea de transformare după iradiere cu ultraviolete, *in vitro* nu s-a mai constatat fenomenul fotoreactivării. S-a stabilit că este necesară prezența unor anumite enzime care, după izolarea lor din celulele bacteriilor și drojdiilor, pot asigura desfășurarea proceselor de fotoreactivare și *in vitro*. De asemenea, s-a demonstrat că acțiunea acestor enzime este necesară pentru refacerea filamentelor de ADN lezate de acțiunea radiației ultraviolete.

Condițiile biochimice din celulă care duc la reactivarea mutațiilor sînt determinate în unele cazuri de proprietățile moleculelor ereditare. S-a arătat că lezarea provocată de ultraviolete a unei tulpini a fagului (T_4) la *E. coli* este înlăturată prin reactivare, datorită particularităților celulare bazate pe acțiunea unei gene speciale, așa-numita genă-*mi*, astfel că leziunea primară a fagilor T_2 și T_4 are caractere identice. Totuși, datorită prezenței genei-*mi*, fagul T_4 se reactivează în proporție de 50%.

Faptul că fenomenul de fotoreactivare se constată numai în cazul lezării celulei cu radiații ultraviolete și nu se observă după acțiunea radiațiilor ionizante atestă un specific calitativ în mecanismele primare ale acțiunii acestor forme diferite de radiații. Energia fotonilor radiațiilor ionizante este atît de mare, încît rupe majoritatea legăturilor chimice. O energie a fotonilor radiațiilor ultraviolete

---

* Radiația ultravioletă cu $\lambda = 2\,650$ Å are energie de 4,7 eV. Radiațiile ultraviolete cu lungimi de undă mai mici de 2 000 Å au energii din ce în ce mai mari și în aceeași măsură ele sînt din ce în ce mai ionizante.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

de 3—5 eV este insuficientă pentru a rupe filamentele de ADN. Lezarea produsă de acești fotoni este legată de excitația moleculelor, stare care poate fi înlăturată prin acțiuni ulterioare.

Excitația moleculelor de ADN și modificarea compoziției lor chimice se obțin de asemenea pe calea așa-numitului efect fotodinamic. La baza efectului fotodinamic care lezează structurile celulare se află absorbția fotonilor de lumină de către anumite substanțe fotosensibile (coloranți, pigmenți ș.a.). Pentru realizarea acestui proces este necesară prezența oxigenului molecular. Experiențele au stabilit eficiența evidentă a efectului fotodinamic în producerea atît a mutațiilor genice, cît și a restructurărilor cromosomice.

Creșterea temperaturii are și ea o acțiune stimulatoare asupra numărului de mutații care iau naștere. Prin creșterea temperaturii, moleculele și atomii devin mai mobili, ceea ce duce la modificări intramoleculare mai frecvente. După cum s-a constatat, creșterea temperaturii accelerează desfășurarea tuturor reacțiilor chimice. Pentru unele cazuri s-a stabilit că la o creștere a temperaturii cu 10°C numărul mutațiilor sporește de cinci ori. Aceasta indică o accelerare a reacțiilor chimice în cromosomi. Temperatura ridicată poate fi o cauză a apariției de restructurări cromosomice. Prin urmare, creșterea temperaturii duce la apariția atît a modificărilor intramoleculare (mutații genice), cît și a ruperii cromosomilor.

Un număr considerabil de experiențe a demonstrat rolul acțiunilor chimice în producerea mutațiilor. Factorii mutageni chimici pot fi împărțiți în patru grupe principale: 1) oxidanți și reducători; 2) compuși alchilanți; 3) radicali liberi; 4) derivați ai purinelor și pirimidinelor.

Un exemplu de acțiune mutagenă a oxidanților și reducătorilor îl poate forma acțiunea iodului, fenolului, apei oxigenate în prezența formaldehidei și a altor compuși. Se știe că oxidarea este însoțită de o pierdere de electroni de către molecule, iar reducerea — de un cîștig de electroni *. Astfel, oxidarea iodului ionic în iod și reducerea fierului din ion feric (Fe^{3+}) în ion feros (Fe^{2+}) se face în felul următor:

$$2I^- + 2Fe^{3+} \rightarrow I_2 + 2Fe^{2+}$$

apariția ionilor feroși avînd loc pe calea captării a doi electroni pierduți de ionii de iod:

$$2Fe^{3+} + 2e^- \rightarrow 2Fe^{2+}.$$

Oxidarea moleculelor organice este legată de pierderea unui atom de hidrogen care, combinîndu-se cu alte molecule, determină reducerea lor. Atomul de hidrogen este format dintr-un proton (H^+) și un electron (e^-), iar transportul lui se face pe calea transportării protonului și electronului. De exemplu, reacția de oxidare a alcoolilor se prezintă astfel:

$$R - CH_2OH - 2H^+ - 2e^- \rightarrow R - C\begin{matrix}=O\\ \diagdown H\end{matrix}$$

Acțiunea reducătorilor și oxidanților asupra structurilor genetice (asupra moleculelor de ADN) nu este încă bine clarificată din punct de vedere chimic.

* Oxidare = pierdere de electroni sau scăderea densității electronice, și reducere = cîștig de electroni sau creșterea densității electronice.—*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Substanțele alchilante formează în prezent un grup deosebit de vast de factori chimici mutageni. Sub aspect chimic, interesul pe care-l prezintă compușii alchilanți constă în aceea că sînt o sursă de introducere în molecule a unor radicali ca metilul (—CH_3), etilul (—CH_2—CH_3), propilul (—CH_2—CH_2—CH_3) ș.a. Astfel, există agenți metilanți (reacția de metilare), etilanți (reacția de etilare) și alți agenți alchilanți. Printre substanțele mutagene alchilante sînt foarte cunoscute epoxizii, etilenimina, iperita, uretanul ș.a. Rămîne încă de stabilit în ce mod acționează agenții alchilanți asupra moleculelor ereditare, dat fiind că la pătrunderea lor în celulă sînt posibile cele mai felurite reacții. Totuși, în unele cazuri putem vorbi despre acțiunea directă a agentului alchilant asupra moleculelor de ADN. În experiențe pe fagul T_4 s-a comparat acțiunea mutagenă a agenților metilanți, etilanți și propilanți. S-a constatat că etilmetansulfonatul are un efect deosebit. Sînt suficiente date care arată că agenții metilanți intră în reacție cu grupările fosfatice primare din moleculele de ADN. Aceasta poate duce la scindarea lanțului principal de ADN prin ruperea legăturilor glucido-fosfatice. Un interes deosebit îl prezintă însă un alt efect chimic posibil al etilmetansulfonatului, și anume alchilarea bazelor din moleculele de ADN și în primul rînd a purinelor. Tratarea cu dietilsulfat *in vitro* a ADN-ului izolat duce la apariția 7-etilguaninei. Astfel, agentul alchilant determină modificarea selectivă a nucleului guanilinic, adică „depurinizarea" moleculelor de ADN. Este clar că astfel de modificări ale structurii chimice a moleculelor de ADN nu pot să nu se răsfrîngă asupra proprietăților lor genetice.

Pe baza unor exemple, s-a arătat însemnătatea radicalilor liberi ca factori mutageni. Se presupune că acest rol al radicalilor liberi este responsabil de acțiunea mutagenă a efectului fotodinamic. În aceste cazuri fotonii, pătrunzînd în celulă, sînt absorbiți de substanțele fotosensibile, ca pigmenții, coloranții, ș.a. care devin sursă de radicali liberi, ca $HO_2^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$ ș.a. Pînă nu de mult, radicalilor liberi li se atribuia o însemnătate deosebit de mare în explicarea efectului mutagen al radiațiilor ionizante. În acest caz, radioliza apei duce la apariția radicalilor $OH^{\bullet}$, $H^{\bullet}$, $HO_2^{\bullet}$. În prezent se crede însă că numărul lor în celulă este prea mic ca să provoace toate leziunile cromosomice survenite sub acțiunea radiațiilor ionizante. În general, acțiunea radiațiilor ionizante asupra cromosomului este directă. Dovezi ale capacității mutagene a radicalilor liberi rezultă din experiențele în care s-a provocat apariția de radicali liberi intracelulari prin introducere de substanțe adecvate.

Astfel, dacă se introduce în celulă fier bivalent și apă oxigenată, se produce reacția Fenton, prin care apar radicalii $OH^{\bullet}$ și $HO_2^{\bullet}$:

$$Fe^{++} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+++} + OH^- + OH^{\bullet}$$

$$OH^{\bullet} + H_2O_2 \rightarrow H_2O + HO_2^{\bullet}.$$

S-a descoperit că acești radicali liberi au o mare capacitate mutagenă.

Proprietățile mutagene ale derivaților purinici și pirimidinici au fost demonstrate prin mai multe experiențe. Este explicabil interesul manifestat față de acești agenți mutageni, dat fiind că ei intră în reacție cu acizii nucleici. S-a demonstrat că nebularina (purin-D-ribozid), 5-bromuracilul și alți derivați ai bazelor azotate produc mutații la plante, fagi și alte organisme. O analiză amănunțită a acțiunii acestor derivați a dus la importanta concluzie a posibilității principiale de acționare localizată selectivă cu un anumit factor mutagen asupra structurii genetice a moleculei de ADN. Aceste cercetări au format o temeinică bază experimentală pentru rezolvarea problemei dependenței calitative a mutațiilor de calitatea

Scanned with OKEN Scanner

factorului care acționează, adică a problemei obținerii mutațiilor dirijate. Vom examina această problemă în ultimul capitol. În linii generale, studiul mutațiilor experimentale provocate de radiațiile ionizante, lumina ultravioletă, procesul fotodinamic, radicalii liberi, agenți oxidanți și reducători, de diferiți alți factori mutageni chimici, și în primul rînd de compușii alchilanți, ne-a apropiat prea puțin de lămurirea reacțiilor chimice concrete care duc la apariția mutațiilor. Soluții pentru rezolvarea acestei importante probleme au fost găsite prin acțiuni directe asupra structurii moleculare a ADN-ului, așa cum vom arăta mai jos. Înainte de a trece la tratarea acestei probleme trebuie să ne oprim asupra particularităților mutațiilor sub acțiunea unor factori mutageni calitativ diferiți. Deși deosebirile care se manifestă în efectul diferiților factori mutageni nu pot fi explicate la nivelul proceselor moleculare din cromosom, ele dovedesc însă existența acestor procese și de aceea merită o atenție deosebită.

În concluzie, trebuie subliniată profunda unitate principială în ce privește modificările materialului genetic la niveluri diferite de organizare a vieții. Aceiași factori mutageni sînt eficienți pentru animale, plante, microorganisme și virusuri. Pentru radiațiile ionizante acest fenomen a fost demonstrat prin numeroase cercetări. Același lucru s-a descoperit și pentru factorii mutageni chimici. S-a stabilit, de pildă, că agentul alchilant etilmetansulfonatul, caracterizat printr-o mare solubilitate și o hidroliză lentă, manifestă o acțiune mutagenă vizibilă asupra drosofilei (insectă), neurosporei (ciupercă ascomicetă), orzului (plantă fanerogamă), *Escherichia coli* (bacterie) și fagului T_4 (virus).

Caracterul universal care se manifestă în acțiunea factorilor mutageni este întru totul logic, deoarece la baza oricăror mutații se află modificări chimice în structura moleculelor de ADN sau ARN.

3. Specificitatea acțiunii exercitate asupra eredității de către diferiți factori mutageni chimici și fizici

Studiul laturii calitative a mutațiilor induse arată existența de reacții evident specifice ale materialului genetic la acțiunea diferiților factori mutageni. Specificitatea este dată de felul în care sînt interesate diferite gene sau grupe de gene ca și de capacitatea de a provoca restructurări cromosomice. Particularitățile calitative ale mutațiilor au ieșit la iveală cu toată claritatea în analiza frecvenței numărului de mutații genetice în raport cu restructurările cromosomice. Acest raport: mutații genetice/restructurări cromosomice sub acțiunea diferiților factori mutageni poate varia de la 0 (0/1) la infinit (1/0). Capacitatea de a provoca numai mutații genetice (1 la numărător și 0 la numitor) o are nebularina (derivat al purinei). Acțiunea specifică a nebularinei se datorește faptului că ea este legată de sinteza normală de ADN prin care se introduc însă baze azotate „greșite" în structura moleculelor sintetizate. Un efect diametral opus îl are 8-etoxicofeina, care provoacă ruperi cromosomice fără producere de mutații genice. În acest caz, ruperile determinate de 8-etoxicofeina se concentrează în cromosomi la nivelul centromerului, la locul strangulațiilor secundare și al altor strangulații. Ceilalți factori mutageni chimici și agenții fizici sub formă de radiații ionizante provoacă simultan atît mutații genice, cît și restructurări cromosomice. Totuși, avînd un efect mutagen universal, acești factori se deosebesc sensibil unul de altul prin caracterul și corelația acestor două categorii fundamentale de mutații. Radiațiile electromagnetice ionizante (radiațiile gamma și Roentgen)

Scanned with OKEN Scanner

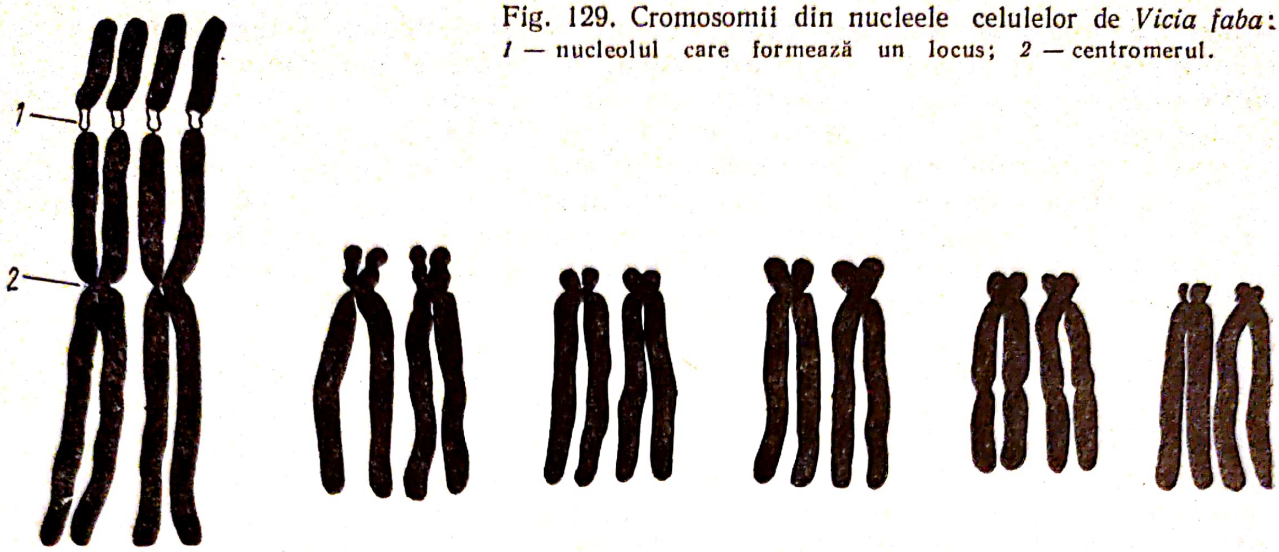


Fig. 129. Cromosomii din nucleele celulelor de *Vicia faba*: *1* — nucleolul care formează un locus; *2* — centromerul.

și radiațiile corpusculare (neutronii, particulele alfa și altele) determină atît mutații genice, cît și ruperi cromosomice. Pentru acești factori mutageni este caracteristică repartiția întîmplătoare a ruperilor de-a lungul fiecărui cromosom. Raportul dintre mutația genică și restructurările cromosomice este cu mult mai mare pentru radiațiile gamma și Roentgen în comparație cu radiațiile corpusculare. Pe de altă parte, toți factorii mutageni chimici se caracterizează printr-o repartizare nealeatorie și caracteristică pentru diferiții compuși ai ruperilor provocate de ei în cromosomi. Singurul element chimic mutagen care, asemenea radiațiilor ionizante, determină o repartizare aleatorie a ruperilor în cromosomi este oxigenul la presiune înaltă. În ce privește ceilalți agenți mutageni chimici, trebuie arătat că încă de la primele lucrări citologice legate de analiza mutagenezei chimice s-a descoperit că efectul uretanului nu provoacă ruperi întîmplătoare de-a lungul întregului cromosom, așa cum se întîmplă în cazul radiațiilor Roentgen. Sub acțiunea acestor factori mutageni chimici s-au pus în evidență în cromosomi locuri de minimă rezistență asupra cărora uretanul acționează în mod electiv. De exemplu, nucleul celular al plantei *Vicia faba* conține șase perechi de cromosomi. Una din aceste perechi (stînga) se remarcă prin mărimea ei (fig. 129). Aceasta este perechea de „cromosomi mari". Celelalte cinci perechi de cromosomi, denumite mici, au aproximativ mărimi egale (fig. 129). Cromosomii mari sînt împărțiți în două datorită faptului că centromerul lor este situat la mijloc. La toți cromosomii mici se constată că poziția centromerului este pronunțat excentrică. Studierea ruperii provocate în cromosomii de *Vicia faba* sub acțiunea radiațiilor gamma a arătat că numărul lor în cromosomii mari și în cromosomii mici se află într-un raport de 5 : 2. Sub acțiunea iperitei, tabloul se schimbă net. În acest caz, rupturile cromosomilor se concentrează în limitele cromosomului mare și raportul menționat mai sus este de 50 : 2. O analiză amănunțită a dezvăluit cauzele caracterului electiv al ruperilor în cromosomul mare. S-a stabilit că rupturile sînt concentrate în regiunile heterocromatinei legate de partea centrală a cromosomului mare.

Diferiții factori mutageni chimici se pot deosebi nu numai după numărul de ruperi cromosomice pe care le determină și după particularitățile repartizării acestora în cromosomi, ci și după capacitatea lor de a provoca diferite tipuri de restructurări cromosomice. Astfel, atît 8-etoxicofeina, cît și mileranul au capacitatea de a provoca în cromosomii orzului rupturi localizate în zona centromerului

Scanned with OKEN Scanner

și în strangulațiile secundare. Totodată, ei prezintă deosebiri remarcabile în ceea ce privește efectul lor asupra diferitelor tipuri de restructurări cromosomice. 8-etoxicofeina provoacă atît restructurări intracromosomice, cît și schimbări între diferiții cromosomi (translocații). Pe de altă parte, mileranul provoacă formarea de translocații. Alături de specificul acțiunii diferiților factori mutageni la nivelul cromosomic descris, din studii suplimentare cu privire la corelația dintre numărul de restructurări cromosomice și numărul total de mutații genice a reieșit specificul mutațiilor genice propriu-zise. În acest caz se poate vorbi despre o reacție deosebită a unor gene diferite (specific de genă sau de locus), precum și a unor alele diferite ale uneia și aceleiași gene, la acțiunea unor factori mutageni diferiți (specific intragenic sau intralocular).

În studiul comparativ al spectrelor de mutații provocate de radiațiile ionizante, pe de o parte, și de factorii mutageni chimici alchilanți, pe de altă parte, au fost puse în evidență deosebiri esențiale. În experiențe pe drosofila s-a dovedit că raportul dintre mutațiile vizibile și mutațiile letale este deosebit pentru diferiții compuși alchilanți. Totodată, el este mai mare pentru majoritatea factorilor mutageni chimici în comparație cu acțiunea radiațiilor ionizante. Specificul acțiunii factorilor mutageni chimici s-a manifestat de asemenea și prin aceea că, sub acțiunea lor, au fost puse în evidență la drosofila mutațiile unor locusuri care nu au fost observate nici în mutageneza spontană, nici în cea indusă de radiațiile ionizante.

Un tablou clar al specificului constatat în mutațiile diferitelor gene ca răspuns la diferiții factori mutageni a fost stabilit în experiențe pe orz. S-a demonstrat că două tipuri principale de mutații ale clorofilei, și anume mutațiile care schimbă culoarea verde în verde-deschis și mutațiile care dau un albinos total (plantele albe, fără clorofilă), apar în diferite raporturi sub acțiunea unor factori mutageni diferiți. S-a constatat că numărul albinoșilor crește deosebit de mult sub acțiunea radiațiilor gamma și a neutronilor. În funcție de calitatea factorului mutagen folosit, numărul mutațiilor în sensul albinismului se micșorează, iar numărul mutanților verzi-deschis crește. Această serie de factori mutageni are ordinea următoare: neutroni și radiații gamma, oxid de etilen și etilenimida, iperita și nebularina. S-a studiat amănunțit la orz apariția mutațiilor erectoide de rezistență la îndoire (la culcare). Aceste mutații determină caracterul de paie tari, asigurînd rezistența la îndoire a plantelor. Analiza genetică a stabilit că mutațiile erectoide apar consecutiv modificării a 22 de locusuri diferite în cromosomii orzului. Deosebit de frecvent apar mutații în locusurile *a*, *c*, *d*, *m*. Unii dintre mutanții locusului *m* se află la originea unuia dintre soiurile deosebit de productive de orz folosit în producție. Compararea frecvenței apariției mutațiilor erectoide sub acțiunea radiațiilor gamma, Roentgen, a neutronilor și protonilor acceleranți și a particulelor alfa este dată în tabelul 14.

Tabelul 14

FRECVENȚA COMPARATIVĂ A MUTAȚIILOR ERECTOIDE SUB ACȚIUNEA A DIFERIȚI FACTORI MUTAGENI ȘI A DIFERITE FELURI DE RADIAȚII

Locusul mutant	Radiații gamma	Radiații Roentgen	Protoni și neutroni	Numărul total de mutații
a	1	10	0	11
c	2	6	9	17
d	1	6	3	10
m	0	3	4	7

Scanned with OKEN Scanner

Datele din acest tabel arată clar că locusurile specifice (genele) reacţionează diferit la variatele tipuri de radiaţii ionizante.

Analiza comparativă a radiaţiilor ionizante (radiaţii gamma) şi a factorilor chimici mutageni (oxidul de etilen şi formaldehida) s-a făcut asupra mutaţiilor rezistenţei la făinare * şi asupra mutaţiilor clorofiliene la orz.

Tabelul 15

VARIABILITATEA DIFERITELOR GENE LA ACŢIUNEA FACTORILOR MUTAGENI

Agentul mutagen	Nr. de familii studiate	Nr. mutaţiilor de la formele sensibile la formele rezistente la făinare	Nr. mutaţiilor clorofiliene	Raportul dintre cele două mutaţii
Mutaţii naturale	38 141	0	22	0,00
Radiaţii gamma	8 531	14	213	0,07
Oxid de etilen	9 251	0	41	0,00
Formaldehidă	15 849	1	47	0,02

Studiindu-se apariţia de mutaţii inverse, în care factorul mutagen determină forme rezistente la făinare, iar la descendenţi forme sensibile la ciuperci s-au obţinut date interesante.

Tabelul 16

MUTAŢII INVERSE ŞI DIRECTE SUB ACŢIUNEA FACTORILOR MUTAGENI

Agentul mutagen	Nr. familii studiate	Nr. mutaţiilor de la formele rezistente la cele sensibile	Nr. mutaţiilor clorofiliene	Raportul dintre cele două mutaţii
Mutaţii naturale	23 377	3	13	0,23
Radiaţii gamma	3 783	1	147	0,01
Oxid de etilen	5 612	2	57	0,04

După cum se vede, sub acţiunea factorilor mutageni chimici (oxid de etilen) mutaţiile de la formele rezistente la cele sensibile apar mai rar decît mutaţiile inverse. Tendinţa mutaţiilor naturale este şi inversă acţiunii radiaţiilor gamma. Există date cu privire la modificarea spectrului mutaţiilor la doze diferite de radiaţii gamma (tabelul 17).

Tabelul 17

RELAŢIA DINTRE NUMĂRUL DE MUTAŢII A DOUĂ ALELE ŞI DOZA DE RADIAŢII GAMMA

Doza de radiaţii gamma în r	Numărul de familii studiate	Nr. mutaţiilor de rezistenţă la 1 r	Nr. mutaţiilor clorofiliene la 1 r	Raportul dintre cele două mutaţii
3 000	713	10^{-8}	$233{,}3 \cdot 10^{-8}$	0,00
10 000	3 640	8,2	277,0	0,03
20 000	651	23,0	230,0	0,10
30 000	555	48,3	100,0	0,24

* Prin rezistenţă la făinare se înţelege rezistenţa la infestarea cu *Erysiphe graminis hordei* (ciupercă parazită). —*N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

Vedem că mutațiile clorofiliene prezintă o dependență directă față de doză. Mutațiile formelor sensibile în forme rezistente la făinare prezintă un alt grad de dependență față de doză. În acest din urmă caz, numărul de mutații pentru un roentgen crește paralel cu mărirea dozei. Ca urmare, relația dintre cele două tipuri de mutații se schimbă brusc la doze diferite de radiații gamma, în sensul prevalenței mutațiilor de rezistență.

Din lucrările cu *Neurospora* a reieșit un tablou limpede al reacției deosebite a două gene la diferite acțiuni mutagene. Pentru experiență au fost luate două alele mutante — una care face creșterea culturii dependente de adenină (alela ad^-), ce trebuie în acest caz introdusă în mediu, și cealaltă care determină dependența de inozită ($inoz^-$). S-au obținut forme conținînd ambele alele mutante, adică forme cu genotipul $ad^- — inoz^-$ care au fost supuse acțiunii factorilor mutageni. La descendenții acestor forme s-a studiat frecvența apariției mutațiilor inverse, adică de la ad^- la ad^+ și de la $inoz^-$ la $inoz^+$, caracterizate prin capacitatea de sinteză a bazei azotate și a vitaminei respective. Rezultatul acestor experiențe este expus în tabelul 18.

Tabelul 18

NUMĂRUL MUTAȚIILOR INVERSE A DOUĂ ALELE LA *NEUROSPORA*, SUB ACȚIUNEA A DIFERIȚI FACTORI MUTAGENI

Factorul mutagen	Numărul de mutații inverse la 10^6 macroconidii		Relația dintre nr. de mutații
	Inoz− → inoz+	*ad− → ad+*	*ad+ / inoz+*
Mutații naturale	0,02	0,2	10
Etilmetansulfonat	11,3	17,4	1,5
Dietilsulfat	4,3	16,8	4
Dimetilsulfat	3,4	84,0	19
Cloretilmetansulfonat	0,3	51,0	190
Diepoxibutan	0,2	89,0	445
Brometilmetansulfonat	0,004	152,0	3 800
Radiație ultravioletă	7,1	3,5	0,5
Radiație Roentgen	0,2	3,2	16,0

Am văzut cît de mare este deosebirea dintre radiațiile a două locusuri la diferiți agenți mutageni. Această deosebire este incomparabil mai mare în ceea ce privește acțiunea brometilmetansulfonatului. În acest caz, numărul mutațiilor în locusul $inoz^-$ este doar de două ori mai mare decît la martor, iar în locusul ad^- de 760 de ori mai mare în comparație cu numărul mutațiilor naturale. Ca urmare, sub acțiunea acestui factor mutagen, mutațiile inverse de la ad^- la ad^+ apar de 3 800 de ori mai des decît mutațiile de la $inoz^-$ la $inoz^+$.

Caracterul diferit al reacțiilor materialului genetic la diverși factori mutageni are ca rezultat devieri generale în tipurile de mutații care apar. Astfel, la orz, sub acțiunea radiațiilor Roentgen și a neutronilor rapizi, printre numeroasele mutații care fac să scadă vitalitatea, ca mutațiile de sterilitate și alte modificări dăunătoare, apar în proporție de 4—5% noi forme viabile. Sub acțiunea oxidului de etilen apar 9% asemenea forme, iar printre mutațiile apărute sub acțiunea etileniminei numărul mutațiilor viabile atinge 20%. Un interes deosebit îl prezintă acțiunea 1,4-bi-diazoacetil-butanului care, din punctul de vedere

Scanned with OKEN Scanner

al eficienței mutagene, a întrecut de trei ori etilenimina și a dovedit un specific și mai pronunțat al acțiunii sale.

Să analizăm mai amănunțit problema rolului particularităților intragenice pentru specificul reacției genetice la mutații.

Am examinat mai sus problema naturii genei, am arătat că gena reprezintă un sistem complex, în care diferite mutații pot afecta laturi diferite ale structurii acestui sistem. Ca urmare, diferitele alele mutante, chiar dacă aparent nu se deosebesc unele de altele în ceea ce privește influența lor asupra caracterelor, se pot deosebi prin proprietățile lor chimice, deoarece au totuși o origine diferită. Deosebirile dintre astfel de alele mutante diferite se observă deseori după diferențe în ceea ce privește variabilitatea lor. Într-adevăr, o experiență cu 15 alele diferite, care provoacă la *Neurospora* pierderea capacității de sinteză a inozitei, a arătat că toate aceste alele se deosebesc una de alta după frecvența apariției de mutații inverse. Aceste deosebiri se observă atît la mutațiile naturale, cît și la producerea de mutații sub acțiunea radiației ultraviolete. S-a demonstrat că frecvența mutațiilor inverse în locusul dat poate depinde, din punct de vedere specific, de calitatea agentului mutagen folosit. În tabelul 19 vom vedea că mutațiile inverse, de la alela *inoz*$^-$ la starea normală a genei *inoz*$^+$, apar de 35 de ori mai frecvent sub acțiunea radiației ultraviolete decît sub acțiunea diepoxibutanului. Altul este aspectul în ceea ce privește mutațiile inverse de la *ad*$^-$ la alela normală *ad*$^+$, unde sub acțiunea diepoxibutanului frecvența lor este de 23 de ori mai mare decît sub acțiunea radiației ultraviolete.

Tabelul 19

INFLUENȚA CARACTERISTICILOR ALELELOR ASUPRA EFICIENȚEI FACTORILOR MUTAGENI CHIMICI

Mutația	Numărul de mutații inverse la 10^7 indivizi supuși acțiunii:	
	Radiație ultravioletă	Diepoxibutan
inoz$^-$ → *inoz*+	70	2
ad$^-$ → *ad*+	35	800

Principala deosebire specifică în ceea ce privește acțiunea factorilor mutageni chimici în comparație cu acțiunea radiațiilor ionizante, a radiațiilor ultraviolete și a altor factori constă în faptul că factorii mutageni chimici produc o stare metastabilă de lungă durată a locusului, stare care precede mutația terminală. O metastabilitate de durată relativ scurtă, adică prezența unor modificări genetice potențiale intermediare, este proprie acțiunii radiațiilor ionizante și radiațiilor ultraviolete. Aceasta rezultă clar din exemplele de reversibilitate a leziunilor primare ale cromosomilor. Posibilitatea acestei reversibilități a mutațiilor potențiale depinde de particularitățile metabolismului celular. S-a stabilit că fixarea lezărilor premergătoare mutațiilor cromosomilor provocate de iradiere, adică desăvîrșirea proceselor care duc la mutații, depinde de desfășurarea sintezei proteinelor și a ADN-ului. Astfel, în celulele bacteriene supuse acțiunii cloramfenicolului, care blochează sinteza proteinelor, apare un număr mai mic de mutații sub acțiunea iradierii. S-a demonstrat că, în ultimă instanță, în aceste procese sinteza ADN-ului este inhibată. Prin asemenea experiențe au fost puse în evidență la bacterii două tipuri de mutații produse sub acțiunea radia-

Scanned with OKEN Scanner

ţiilor ultraviolete. La unul dintre aceste tipuri, constînd mai ales din mutaţii inverse, de la auxotrofe la prototrofe, inhibiţia sintezei proteinelor timp de o oră după iradiere nu provoacă apariţia mutaţiilor. La celălalt tip, constînd din mutaţii de la alelele sensibilităţii la streptomicină la alelele rezistenţei la acest antibiotic, nu s-a observat influenţa întîrzierii sintezei proteinelor asupra procesului de mutageneză indusă.

Însă în cazul acţiunii radiaţiilor ionizante şi a luminii ultraviolete, toate procesele care au loc la nivelul lezărilor premutante se termină relativ repede, fie prin afectarea completă a cromosomului (mutaţie), fie prin refacerea structurii normale iniţiale. În orice caz, durata acestor procese nu depăşeşte, de regulă, durata unei singure diviziuni celulare.

Un alt aspect se observă în acţiunea unor factori mutageni chimici. În experienţe pe drosofila s-a arătat că în cazurile în care factorii mutageni chimici acţionau asupra spermatozoizilor maturi, mutaţiile apăreau deseori nu în spermatozoizii înşişi, ci cu mult mai tîrziu, în diferitele stadii ale dezvoltării larvei. Ca urmare a unor astfel de mutaţii somatice apar indivizi în mozaic, care prezintă mutaţii în organele şi ţesuturile derivate din celulele care au suferit modificări mutagene. Aceste fapte au arătat că vătămarea premutagenă produsă de agenţii mutageni chimici poate dura foarte mult timp, respectiv de-a lungul unui şir întreg de generaţii celulare. S-a demonstrat de asemenea că la drosofila caracterele în mozaic determinate de acţiunea factorilor chimici sînt supuse coeficientului de temperatură, adică ele cresc de două-trei ori la urcarea temperaturii cu 10°C. Acest fapt indică prezenţa unor reacţii chimice intermediare care duc la modificările respective, de la vătămarea iniţială, la deplina stabilizare a modificării mutaţionale din cromosom. Ulterior, asemenea întîrzieri în apariţia mutaţiilor determinate de factorii mutageni chimici au fost puse în evidenţă la bacterii, la *Neurospora* şi la virusuri.

Întîrzierea caracteristică în apariţia restructurărilor cromosomice deosebeşte efectul a numeroşi factori mutageni chimici de efectul acţiunii radiaţiilor ionizante, a luminii ultraviolete şi a altor cîţiva factori mutageni chimici care, ca şi radiaţiile, nu întîrzie în timp apariţia restructurărilor cromosomice. S-a stabilit că iperita, uretanul, mileranul şi alţi cîţiva factori mutageni chimici, o dată introduşi în celulă, îşi manifestă efectul numai în momentul autoreproducerii cromosomului. Astfel, dacă se tratează rădăcinile de *Vicia faba*, în metafază, restructurările cromosomice încep să apară abia la opt ore după tratare. Aceasta arată că în stadiul de separare cromosomii nu suferă influenţa factorului mutagen. Restructurările apar în cromosomii care la începutul acţiunii factorilor mutageni se aflau în stadiul de filament unic. Ele apar în momentul autoreproducerii cromosomilor. Este posibil ca agentul mutagen să modifice structura chimică a precursorilor ADN-ului incluşi în nucleu, alterînd structura acestora. În acest caz, toate restructurările au un caracter cromatidic. În ceea ce priveşte radiaţiile ionizante şi lumina ultravioletă, după cît se pare ele acţionează direct atît asupra filamentului cromosomic, cît şi asupra cromatidelor în orice fază a ciclului celular.

Pentru aprecierea specificului acţiunii factorilor mutageni chimici este foarte important să se ţină seama şi de următorul fapt. S-a constatat că unii factori mutageni chimici în soluţii concentrate au o capacitate mutagenă, iar în soluţii diluate capătă proprietăţi diametral opuse, devenind substanţe protectoare chiar faţă de mutaţiile naturale. Această transformare a factorilor mutageni chimici în factori antimutageni în funcţie de doza substanţei active prezintă un interes

Scanned with OKEN Scanner

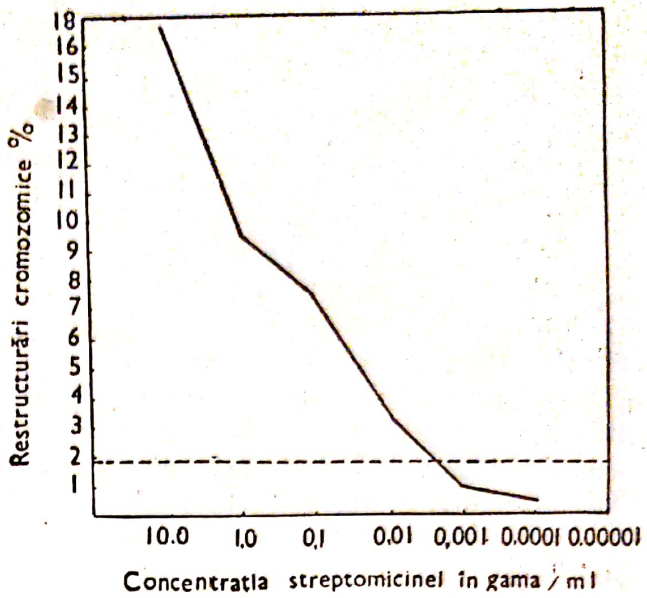


Fig. 130. Dependența proprietăților mutagene și antimutagene ale streptomicinei de concentrația sa. Linia punctată indică nivelul mutațiilor naturale.

deosebit și nu se observă niciodată în cazul factorilor mutageni fizici, și anume al radiațiilor ionizante și al radiațiilor ultraviolete. Am văzut că pentru radiațiile ionizante nu există o doză-prag. Orice doză mică de radiații duce la apariția unei modificări mutagene mici, dar calitativ identice în structurile ereditare, ca și orice doză mare care produce mutații de un volum respectiv mai mare. Chiar dacă survin modificări în spectrul mutațiilor la diferite forme și doze de iradiere, totuși acțiunea calitativă principală a radiațiilor asupra eredității rămîne aceeași. Energia radiațiilor pătrunse în celulă duce la apariția de modificări radiochimice în cromosomi, sub formă de modificări genetice și restructurări cromosomice.

Un alt tablou se constată pentru unii factori mutageni chimici. În cazul acțiunii streptomicinei asupra rădăcinii de ceapă, s-a constatat că la concentrațiile de 10,0; 1,0; 0,1; 0,01 μg/ml se observă un număr maxim de mutații la 10,0 și minim la 0,01 μg/ml. Totuși, reducînd ulterior concentrația pînă la 0,001; 0,0001 μg/ml, streptomicina nu numai că-și pierde proprietățile mutagene, dar ferește nucleul celulei chiar de mutațiile spontane. Această dependență a proprietăților mutagene și antimutagene ale streptomicinei de concentrația soluției care acționează asupra celulei este reprezentată în fig. 130.

Prezența unor profunde deosebiri în mecanismele de acțiune ale factorilor mutageni chimici, pe de o parte, și a factorilor mutageni fizici, pe de altă parte, pune în mod acut problema interacțiunii acestor agenți în celula vie, la producerea mutațiilor. Este explicabil faptul că în interacțiunea dintre factorii mutageni chimici și fizici întîlnim combinarea și modificarea reciprocă a unor procese foarte complexe. Apar diferite tipuri de lezări premutaționale primare, se desfășoară în chip diferit procesele de stabilizare a mutațiilor și procesele de reversibilitate a mutațiilor neterminate, are loc o reacție diferită a condițiilor intracelulare și a celor externe, ca de pildă presiunea oxigenului, interacțiunea cu factorii antimutageni, cu compușii protectori, cu modificările din sinteza proteinei etc. Cu toate că abordarea din punct de vedere chimic a tuturor acestor fenomene este foarte complicată și în această direcție s-au făcut abia primii pași, aceasta nu diminuează importanța faptului că analiza interacțiunii factorilor mutageni chimici și fizici prezintă perspective excepționale.

S-a arătat că tratarea cu colchicină, înaintea expunerii la radiații ionizante, modifică vizibil spectrul mutațiilor obținute. În experiențe pe orz s-a arătat că în aceste condiții apar numeroase mutații clorofiliene de un tip rar. Tratarea separată cu mileran provoacă restructurări intracromosomice și nu produce translocații. Această particularitate a mutațiilor introduse de mileran apare clar atunci cînd acțiunea lui este combinată cu aceea a radiațiilor Roentgen.

În acest caz, numărul de restructurări cromosomice este mai mare decît în cazul unei acțiuni separate a radiațiilor Roentgen. În schimb, numărul translocațiilor scade simțitor. Studiindu-se efectul oxigenului la *E. coli*, s-a descoperit că unele gene suferă mutații cu frecvență crescută în urma creșterii presiunii oxigenului iar altele nu-și modifică ritmul de mutageneză indusă.

Un efect mutagen specific îl are acțiunea combinată a radiației ultraviolete și a diepoxibutanului asupra variabilității alelei legate de pierderea capacității de sinteză a adeninei (ad^-). Mutațiile inverse, de la alela mutantă ad^- la cea normală ad^+, se produc cu o frecvență considerabil mai mare în cazul tratării prealabile a conidiilor de *Neurospora* cu diepoxibutan, urmată de iradiere cu radiații ultraviolete, în comparație cu suma mutațiilor obținute sub acțiunea acestor factori separați. Totodată, acțiunea combinată a acestor doi factori mutageni nu produce același efect în cazul mutațiilor alelei $inoz^-$ spre starea normală $inoz^+$. De astă dată are loc o simplă însumare a efectului fiecăruia dintre factorii mutageni (tabelul 20).

Tabelul 20

EFECTUL MUTAGEN MĂRIT ÎN CAZUL ACȚIUNII COMBINATE A RADIAȚIILOR ULTRAVIOLETE ȘI A FACTORILOR MUTAGENI CHIMICI

Factorul mutagen folosit	Procentul de spori	Numărul de mutații la 10^6 spori	
		$inoz^- \rightarrow inoz^+$	$ad^- \rightarrow ad^+$
Diepoxibutan (Deb).	85,5	0,1	1,6
Lumină ultravioletă (U.V.)	76,9	4,0	2,5
U.V. + Deb.	67,4	4,2	18,8

Creșterea numărului de mutații în cazul acțiunii combinate a diferiți factori mutageni începe să fie folosită în selecție. Există date cu privire la selecția reușită a mutațiilor în procesul de obținere a unor tulpini de înaltă productivitate a eritromicinei prin acțiunea combinată a etileniminei și a radiației ultraviolete asupra sporilor (tabelul 21).

Tabelul 21

SELECȚIA UNOR TULPINI DE ÎNALTĂ PRODUCTIVITATE A ERITROMICINEI ÎN CAZUL ACȚIUNII COMBINATE A ETILENIMINEI ȘI A RADIAȚIEI ULTRAVIOLETE ASUPRA SPORILOR

Factori mutageni folosiți	Numărul coloniilor monosporulate controlate	Numărul de colonii selecționate cu productivitate crescută	Procentul de colonii cu productivitate crescută
Mutații spontane	200	0	0,0
Radiație ultravioletă	200	1	0,5
Etilenimina	485	1	0,2
Radiație ultravioletă apoi etilenimina	690	5	0,7
Etilenimina, apoi radiație ultravioletă	526	9	1,7
Radiație Roentgen	290	3	1,0
Radiație Roentgen, apoi etilenimina	1 235	2	0,16
Etilenimina, apoi radiație Roentgen	793	6	0,07

Scanned with OKEN Scanner

Din tabel se vede că acțiunea combinată a etileniminei și a radiațiilor ultraviolete sporește numărul de mutații care măresc productivitatea tulpinilor. Pe de altă parte, prin combinarea acțiunii etileniminei cu aceea a radiațiilor Roentgen se micșorează eficiența mutagenă. Se cunosc în prezent asemenea efecte protectoare datorită acțiunii combinate a doi factori mutageni. De exemplu, în cazul acțiunii unor anumite concentrații de streptomicină asupra celulelor umane în culturi de țesuturi se mărește numărul restructurărilor cromosomice. Pe de altă parte, radiațiile Roentgen au o mare eficiență mutagenă. Însă acțiunea combinată a radiațiilor Roentgen și a dozelor mutagene de streptomicină realizează protecția cromosomilor din celulele umane împotriva leziunilor de iradiere. (Tabelul 22).

Tabelul 22

PROTECȚIA ÎMPOTRIVA LEZIUNILOR DE IRADIERE ÎN URMA EFECTULUI COMBINAT AL RADIAȚIILOR CU FACTORUL MUTAGEN CHIMIC

Factorii mutageni folosiți	Numărul celulelor umane din culturi de țesuturi cu mutații cromosomice (în %)
Mutații spontane	2,1
Streptomicina (0,1 μg/ml)	3,0
Radiație Roentgen 50 r, fixarea după 25 de ore de la iradiere	20,0
Streptomicină plus radiație Roentgen	12,0

Efectul protector a fost pus în evidență și în cazul interacțiunii a doi factori mutageni chimici. Studiul factorilor mutageni naturali la una dintre formele de *Vicia faba* a arătat că acești factori sînt substanțe care se găsesc în învelișul de culoare închisă al semințelor. Extractele din acest înveliș conțin factori mutageni chimici, capabili să inducă apariția unor mutații în celulele altor plante.

Experiențele s-au făcut cu rădăcini de ceapă. La germinarea semințelor de ceapă într-un extract apos de semințe de *Vicia faba*, numărul restructurărilor cromosomice creștea simțitor. Un efect mutagen vizibil îl are acțiunea streptomicinei în anumite concentrații. Însă în cazul unei acțiuni combinate a factorilor mutageni chimici din extractul de *Vicia faba* și a streptomicinei numărul mutațiilor scade simțitor (tabelul 23).

Vedem că diferitele moduri de acțiune comună a factorilor mutageni au dat rezultate diferite. În cazul germinării semințelor într-o soluție conținînd amestecul a doi factori mutageni, deși se constată o protecție puternică, totuși are loc o oarecare mutageneză reziduală (6,7% față de 3,7% la martor). În cazul acțiunii succesive la început a streptomicinei, iar apoi a extractului din semințele de *Vicia faba* are loc o completă anihilare reciprocă a acțiunii factorilor mutageni (3,2% față de 3,7% la martor). Vedem că dispariția completă a efectului mutagen al streptomicinei are loc după ce aceasta își exercitase acțiunea asupra cromosomilor, deoarece în aceste condiții streptomicina singură are o acțiune mutagenă. Aceasta arată că la început streptomicina produce modificări potențiale, latente în cromosomi. Extractul din semințele de *Vicia faba*, acționînd

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 23

EFECTUL PROTECTOR AL ACȚIUNII COMBINATE A FACTORILOR MUTAGENI CHIMICI

Condițiile de experiență	Nr. rădăcini studiate	Nr. anafaze studiate	Procentul de celule cu restructurări cromosomice
Semințe germinate în extracte de semințe de *Vicia faba*	58	2 047	11,4±0,7
Semințe germinate în soluție de streptomicină (0,01 μg/ml)	47	1 569	12,3±0,82
Semințe germinate în soluție specială de streptomicină și extract de semințe de *Vicia faba*	64	2 810	6,7±0,41
Semințe germinate inițial în soluție de streptomicină (48 de ore), iar apoi în extract de semințe de *Vicia faba* (pînă la 90 de ore)	51	2 220	3,2±0,21
Semințe germinate în apă (martor)	67	1 706	3,7±0,15

asupra acestor cromosomi în prealabil modificați de streptomicină, dobîndește, în locul însușirii mutagene, o capacitate protectoare. El anihilează efectul streptomicinei și pierde, cu această ocazie, proprietățile sale mutagene. Aceste fapte arată că fenomenele descrise au loc nu pe calea unei interacțiuni chimice directe a diferiților factori mutageni în soluție sau în interiorul celulei, ci prin interacțiuni specifice ale efectelor primare ale factorilor mutageni la nivel cromosomic. Tocmai acest tip de relație stă la baza transformării factorilor mutageni în substanțe protectoare în cazul efectului combinat a doi factori mutageni chimici asupra cromosomului.

În lumina acestor principii se pot explica faptele cunoscute cu privire la efectul protector al factorilor mutageni chimici împotriva radiațiilor ionizante, ceea ce am văzut mai sus pentru streptomicină, mileran și, ceea ce ne este cunoscut, pentru unii aminoacizi (arginină ș.a.), iperită, derivați ai acizilor nucleici, alcool etilic și alți factori mutageni chimici. În aceste cazuri asistăm la interacțiunea dintre efectele primare ale radiațiilor și factorii mutageni chimici.

Datele privind specificul acțiunii factorilor mutageni chimici și particularitățile acțiunii lor asupra nucleului în cazul unui efect combinat arată cît de complecși și contradictorii sînt factorii care determină mutațiile. Multilateralitatea mutațiilor cere un studiu adîncit al specificului acțiunii separate a diferiților factori mutageni și al proceselor interacțiunii lor în celulă. Aceasta se referă la interacțiunea radiațiilor cu factorii mutageni chimici, a diferitelor forme de radiații între ele și a diferiților factori mutageni chimici între ei. Este necesar să se studieze efectele combinării acțiunii factorilor mutageni cu modificările metabolismului celular, și în primul rînd efectele combinării sintezei proteinelor și ADN-ului cu efectul de protecție chimică și cu acțiunea factorilor chimici antimutageni, cu acțiunea oxigenului și cu mulți alți factori. Cercetările în acest domeniu sînt necesare pentru dezlegarea enigmei dirijării mutațiilor. Totodată, pentru elucidarea problemei agenților mutageni chimici există greutăți serioase. Aceste greutăți rezidă în caracterul complex al proceselor intracelulare, în dificultatea de a interpreta, la nivel molecular, natura proceselor chimice care stau la

Scanned with OKEN Scanner

baza acțiunii factorului mutagen asupra nucleoproteidelor și a moleculelor de ADN.

După ce factorul mutagen chimic pătrunde în celulă, el poate intra într-un șir de reacții cu componentele citoplasmatice și, ca urmare, nu el însuși, ci derivații săi devin capabili să reacționeze în cursul modificărilor ADN-ului în cromosomi. În cele mai multe cazuri, acest fapt pune piedici serioase în analiza exactă a naturii interacțiunii chimice dintre factorul mutagen și materialul genetic. În plus, problema se complică datorită faptului că în timpul modificării chimice a moleculelor de ADN, factorul mutagen sau derivatul său activ se întîlnește în celulă cu nucleoproteina, în care moleculele de ADN sînt combinate cu proteina. Reacția cu proteina poate constitui o verigă în întreg lanțul de reacții mutagene; ea poate servi la accentuarea sau slăbirea efectului mutagen. Apoi, după cum am văzut, produsul primar care apare în urma interacțiunii dintre factorul mutagen intracelular și ADN reprezintă o stare premutațională labilă. Starea metastabilă se poate întinde de-a lungul cîtorva generații celulare, fiind legată de procesele metabolice din celulă. Mutațiile apar după încheierea întregului lanț de reacții. Deocamdată nu sîntem în măsură să interpretăm de pe poziții chimice esența acestor reacții, fapt care nu diminuează însă însemnătatea cercetărilor pentru producerea pe cale chimică a mutațiilor. Nu trebuie uitat că preexistența specificității în mutageneză sub acțiunea unor anumiți factori mutageni arată că reacția substanței introdusă în celulă sau a derivaților săi nu se realizează la întîmplare. Cercetările asupra specificității au arătat că anumite structuri moleculare reacționează cu factorul mutagen, cu derivații săi, în anumite puncte ale cromosomilor. Această specificitate are de regulă un caracter destul de larg. Noi nu avem posibilitatea de a efectua un control dirijat asupra variabilității sub acțiunea compușilor alchilanți, a agenților oxidanți și reducători, a radicalilor liberi și, în marea majoritate a cazurilor, sub acțiunea derivaților purinici și pirimidinici. În prezent putem vorbi doar de o specificitate de grup, adică despre modificări specifice în spectrul mutațiilor. În toate tipurile de mutageneză descrise mai sus, noi nu știm exact cum anume un compus chimic mutagen modifică structura chimică a moleculelor de ADN. Este explicabilă atenția deosebită acordată analizei unor cazuri, deocamdată încă foarte rare, în care prin folosirea unor factori mutageni chimici se produce o reacție directă între compusul mutagen folosit și materialul genetic. În acest caz problema specificității mutației atinge nivelul molecular. Analiza unor asemenea cazuri a deschis calea cercetărilor într-o direcție bine orientată, și anume asupra mutațiilor la animale, plante, microorganisme și virusuri.

4. Modificarea dirijată a structurii chimice a moleculelor ereditare

Studiul naturii efectului chimic asupra materialului genetic și al transformărilor prin care trece în acest caz structura moleculară a ADN-lui este extrem de complex. Deocamdată există puține date experimentale care să arate cu precizie prezența unei reacții chimice directe între agentul mutagen și materialul genetic. De aceea, toate datele relative la particularitățile mutagenezei la nivel molecular prezintă un foarte mare interes. Printre aceste materiale atrag îndeosebi atenția faptele privind caracterul mutațiilor în regiunea *r* II a bacteriofagului T_4.

În aceste materiale nu găsim încă dovezi evidente cu privire la natura moleculară a modificărilor chimice din filamentul de ADN. Totuși, aceste date prezintă un mare interes, deoarece rezultatele acestei analize sînt o dovadă directă a proceselor specifice care au loc la nivel molecular.

În figura 131 sînt prezentate date comparative cu privire la mutațiile spontane și induse în sublocusurile cistronului *B* la bacteriofagul T_4. Este izbitoare deosebirea dintre particularitățile mutațiilor spontane și cele ale mutațiilor induse de diferiți factori. Vedem că mutațiile spontane afectează majoritatea sublocusurilor, efectul lor fiind repartizat în mod diferențiat de-a lungul întregii regiuni studiate a cistronului *B*. Mutageneza indusă de factori chimici și de radiația ultravioletă, chiar în locusurile care dau multe mutații spontane, afectează un număr mai mic de sublocusuri. Acest fapt reflectă limpede specificitatea efectului acestor factori.

Totodată, diferitele sublocusuri prezintă deosebiri specifice chiar în procesul mutației spontane. Subgenele care dau un număr deosebit de mare de mutații au căpătat denumirea de zone calde. Vedem (fig. 131) că pentru mutațiile spontane o astfel de zonă caldă net pronunțată este sublocusul B_4b1-117. Specificul acțiunii unor factori mutageni chimici își găsește expresia în faptul că acest sublocus, care în condiții naturale trece prin atît de frecvente mutații, în unele cazuri nu suferă nici un fel de mutații sub acțiunea factorilor mutageni. Vedem (fig. 131) că sublocusul 117 nu suferă mutații sub acțiunea hidroxilaminei, 2-aminopurinei și aproape că nu este afectat de mutații sub acțiunea proflavinei. Zonele calde în mutageneza chimică sînt diferite în comparație cu cele din mutageneza naturală. Astfel, în cazul acțiunii acidului azotos asupra bacteriofagului, o zonă caldă net pronunțată este localizată în sublocusul B1*b*1-24. Același efect îl are 5-bromuracilul și radiația ultravioletă. Pe de altă parte, o serie de factori mutageni nu formează în general zone calde. Aceasta se referă la 2,6-diaminopurina și proflavina. Astfel, fig. 131 ne înfățișează clar tabloul unor mutații specifice sub acțiunea a diferiți factori mutageni. Este neîndoielnic că baza acestui specific o constituie deosebirile în ceea ce privește particularitățile de reactivitate chimică a diferitelor porțiuni de ADN din această parte a cistronului *B*. Prezența zonelor calde pe harta mutațiilor (fig. 131) permite să se tragă o concluzie esențială cu privire la substratul chimic al modificărilor din structura moleculară a ADN-ului. Filamentul dublu de ADN este constituit prin repetarea unora și acelorași perechi de baze, și anume a perechilor adenină — timină și guanină — citozină. Faptul că în anumite sublocusuri mutațiile se produc mai frecvent arată că, deși în structura lor intră aceleași perechi de baze, reacția mutagenă nu este dependentă numai de specificul acestora. Este evident că frecvența mutațiilor trebuie să fie datorită și secvenței în grupul de nucleotide.

Analiza acțiunii unor factori mutageni asupra bacteriofagilor a permis să se pătrundă mai adînc în esența modificărilor pe care acești factori le produc în moleculele de ADN. Ca un prim exemplu de acest fel vom indica analiza acțiunii mutagene a acridinelor. La bacteriofag, în mutațiile spontane (naturale), apar deseori modificări intragenice, precum și deleții ale materialului genetic, fapte analizate în capitolul anterior. Trebuie completate datele expuse anterior cu privire la natura modificărilor intragenice. Am văzut că mutațiile din regiunea *r* II a bacteriofagului T_4 duc în multe cazuri la pierderea funcțiilor cistronului în care au avut loc mutațiile. Acești mutanți nu cresc pe celulele tulpinii *K*. Însă printre mutațiile intragenice este cunoscută și o altă clasă, caracteristică

Scanned with OKEN Scanner

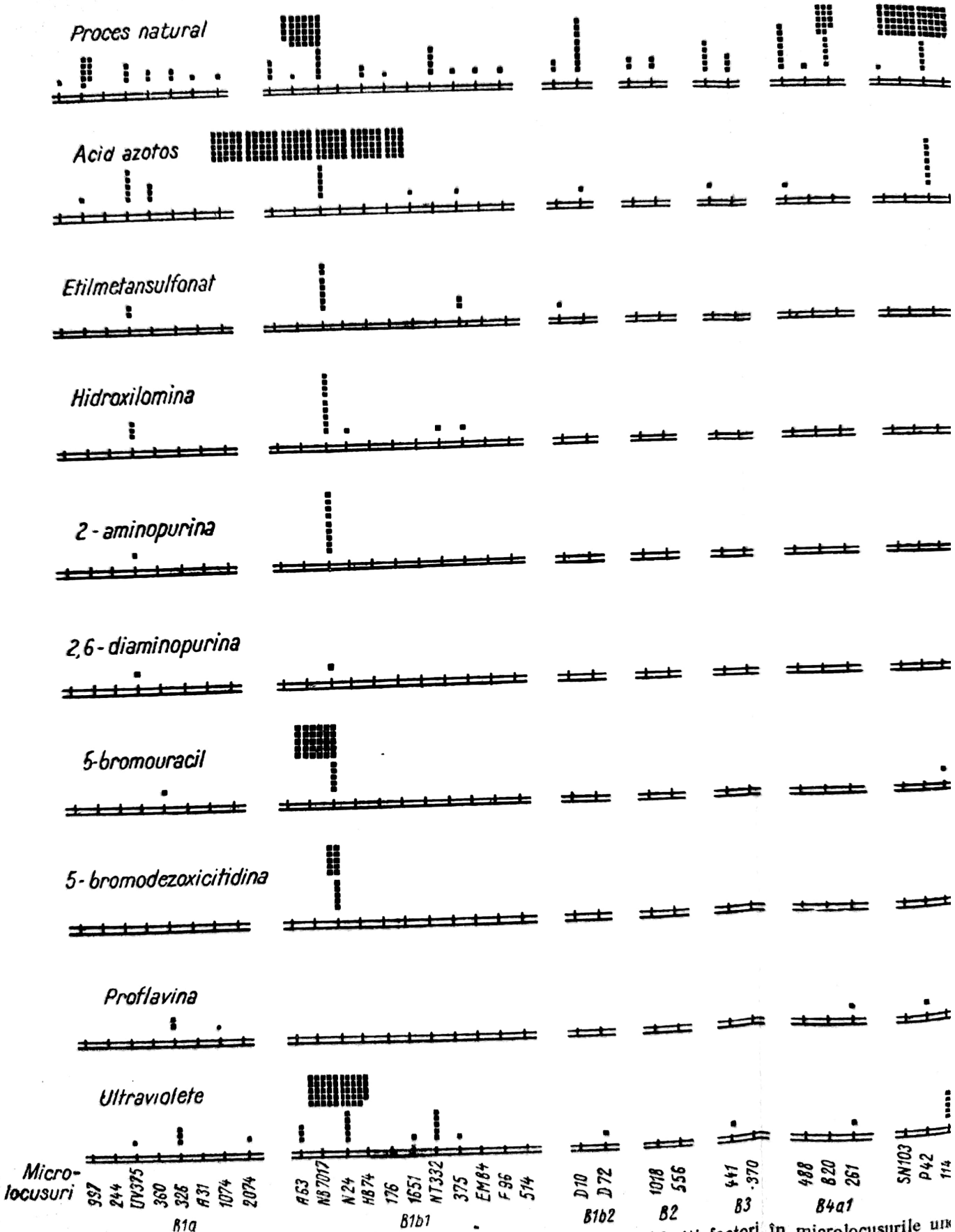
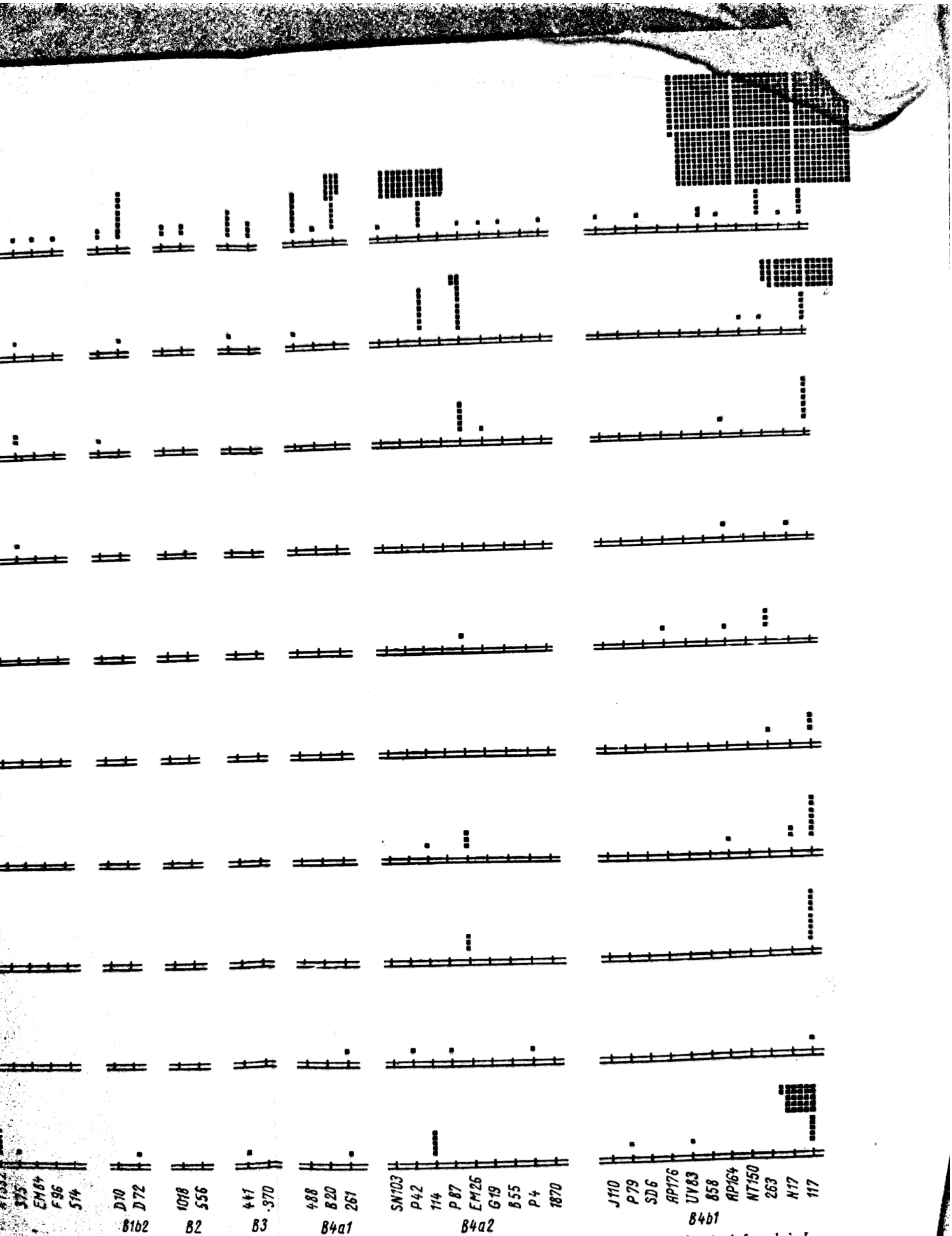
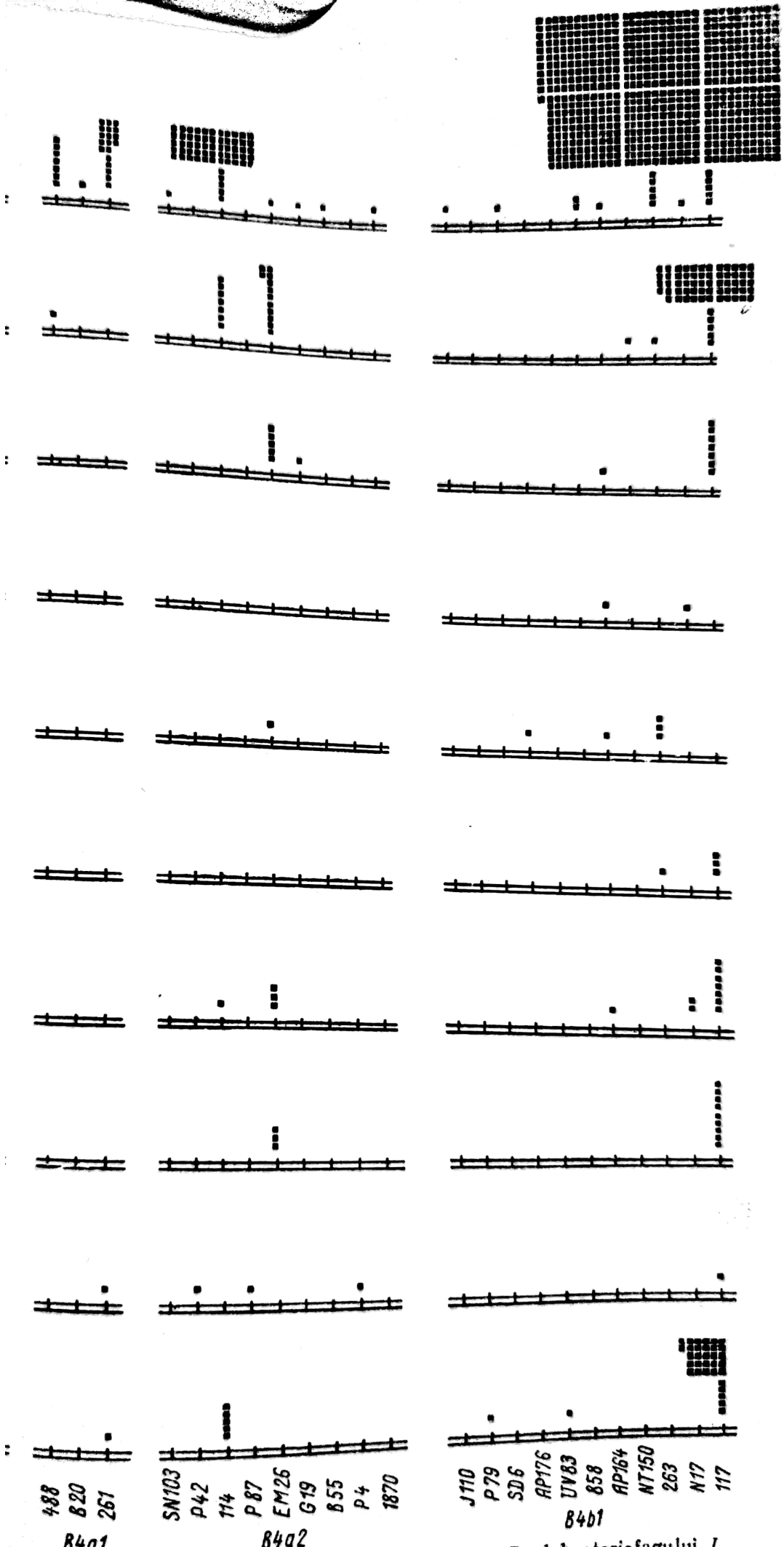


Fig. 131. Caracterizarea comparativă a mutațiilor naturale și induse de diferiți factori în microlocusurile un



naturale și induse de diferiți factori în microlocusurile unor porțiuni ale cistronului *B* al bacteriofagului I_4



în microlocusurile unor porțiuni ale cistronului *B* al bacteriofagului I_4

Scanned with OKEN Scanner

pentru aceste mutații, și anume tipul așa-numitelor mutații *leaky**. Aceste mutații afectează numai o parte a funcțiilor cistronului. Fagii, care prezintă aceste mutații, cresc pe celulele tulpinii *K*, însă plajele pe care le formează pe cultura tulpinii *B* se deosebesc prin unele particularități de cele normale. Mutațiile de tipul *leaky* apar deseori atît ca mutații spontane, cît și induse. De pildă, sub acțiunea 5-bromuracilului, aproape jumătate din mutații sînt de acest tip. Mutațiile a diferite părți ale cistronului sînt legate de pierderea totală a funcțiilor cistronului sau de pierderea parțială a acestor funcții (mutațiile *leaky*), ele fiind toate capabile să dea mutații inverse. În ceea ce privește delețiile, acestea se deosebesc radical prin proprietățile lor de modificările intragenice. Delețiile duc întotdeauna la pierderea totală a funcțiilor cistronului și nu dau mutații inverse **.

Analiza mutanților obținuți sub acțiunea acridinelor, și în special a proflavinei, a arătat că în marea majoritate a cazurilor, ei se caracterizează prin proprietăți care se deosebesc net de mutațiile intragenice obișnuite. Multe din ele au caracterele delețiilor. În capitolul consacrat problemei genei, am văzut că mutațiile suplimentare, care apar în același cistron sub acțiunea acridinelor, sînt deseori supresoare, adică anihilează efectul mutațiilor, dînd tabloul mutațiilor pseudoinverse. Analiza naturii acestor mutații a arătat că în cazul unor asemenea transformări pseudoinverse are loc întîlnirea a două mutații cu semne diferite (deleție-minus, inserare-plus). Dacă mai înainte exista o deleție, supresia reprezintă o inserare și invers. În fig. 86 se arată cum o deleție sau inserare dezorganizează calculul codului, în urma cărui fapt cistronul își pierde complet funcțiile. A doua mutație acridinică restabilește capacitatea cistronului de a programa sinteza proteinei respective (fig. 87). Dacă prima mutație era o deleție, cea de-a doua reprezintă o inserare și ele trebuie să fie de dimensiuni egale, altfel nu se obține restabilirea funcțiilor cistronului.

Prin experiențe directe s-a pus în evidență deosebirea dintre deleții și inserări, căci în unele cazuri acestea din urmă, desprinzîndu-se de filamentul de ADN, dau adevărate modificări inverse față de normal. Prin analiza unor mutații acridinice triple și cvadruple fie în același sens (inserare sau deleție), cît și obținute prin combinările unor mutații de sens diferit a fost confirmat tabloul identității dimensiunilor mutațiilor și a apărut probabilitatea ca acestea să reprezinte pierderi (deleții) sau completări (inserări) ale unui nucleotid.

Astfel, în cazul mutațiilor acridinice avem de-a face cu tulburări în sinteza moleculelor de ADN ale bacteriofagului care duc la pierderea sau inserarea a diferite nucleotide. Atît unul, cît și celălalt tip de modificări duc la pierderea completă a funcțiilor cistronului. Aceste exemple arată că analiza mutațiilor la nivelul cistronilor la bacteriofagul T_4 ne apropie foarte mult de nivelul molecular al mecanismului interacțiunii dintre materialul genetic și factorul mutagen.

Aceasta reprezintă însă puțin căci noile lucrări efectuate pe virusul mozaicului tutunului, bacteriofagul T_4 și bacterii ne-au introdus în domeniul reacțiilor primare dintre materialul genetic și reagentul chimic care produce mutații prin modificarea structurilor moleculare ale acizilor nucleici.

Un interes excepțional prezintă studierea mutațiilor care apar ca urmare a unor modificări chimice în anumite perechi de baze din moleculele acizilor nucleici. Aceste cercetări s-au făcut prin folosirea acțiunii așa-numiților analogi

---

* *Leaky* = cu goluri. Se referă la caracterul plajelor de liză — de la *the leak* = gaură prin care pătrunde apă (în limba engleză). — *N.R.*

** Delețiile sau suprimările nu dau mutații inverse spontane. — *N.R.*

Scanned with OKEN Scanner

ai bazelor şi cu ajutorul unor efecte chimice specifice ale acidului azotos în reacţiile sale cu acizii nucleici.

Modificarea dirijată în moleculele genetice de acid nucleic obţinut prin acţiune mutagenă a acidului azotos (HNO_2) este dovedită pregnant pe baza experienţelor cu virusul mozaicului tutunului. În fig. 16—17 este înfăţişat modelul structurii virusului mozaicului tutunului. ARN-ul viral, izolat în stare pură, îşi păstrează proprietăţile virulente. Putem acţiona *in vitro* cu acid azotos asupra acestui ARN, obţinînd anumite modificări chimice şi apoi, introducîndu-l în celulele foilor de tutun, să urmărim apariţia şi înmulţirea formelor mutante. S-a stabilit că sub acţiunea acidului azotos, trei din cele patru baze azotate diferite care intră în compoziţia moleculei de ARN suferă modificări bine determinate. Aceasta se datoreşte reacţiei de dezaminare a nucleotidelor de către acidul azotos şi constă în faptul că gruparea aminică, adică radicalul —NH_2, este înlocuită cu oxigenul. În urma reacţiei de dezaminare, trei baze azotate, şi anume: adenina, guanina şi citozina, se transformă în bazele oxidate corespunzătoare. Este esenţial faptul că în cazul interacţiunii dintre moleculele de ARN şi acidul azotos, în afară de dezaminare, nu mai au loc nici un fel de alte reacţii. După cum se vede în fig. 132, în urma dezaminării nucleotidelor de către acidul azotos, adenina se transformă în hipoxantină, guanina în xantină, iar citozina în uracil. A patra bază din ARN, şi anume uracilul, nu se dezaminează sub acţiunea acidului azotos, însă oxibazele apărute în molecula de ARN nu se păstrează în molecula sa în cursul autoreproducerilor acestei molecule. În cazul inducerii unui astfel de ARN modificat, în procesul autoreplicării sale se produce înlocuirea oxibazelor hipoxantina şi xantina, cu baze obişnuite pentru ARN, ca guanina. Astfel, rezultatul final al mutagenezei chimice prin acţi-

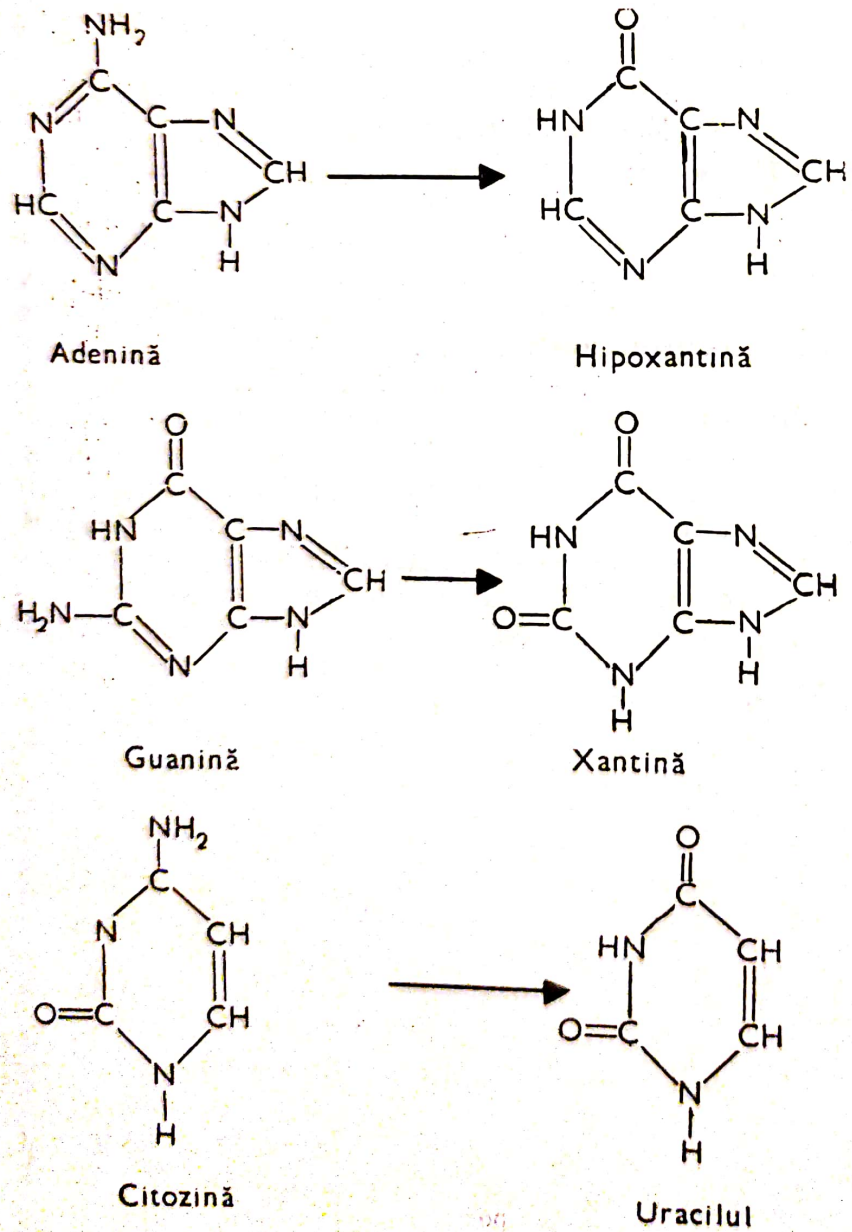


Fig. 132. Transformarea chimică a bazelor azotate în analogii lor sub acţiunea acidului azotos

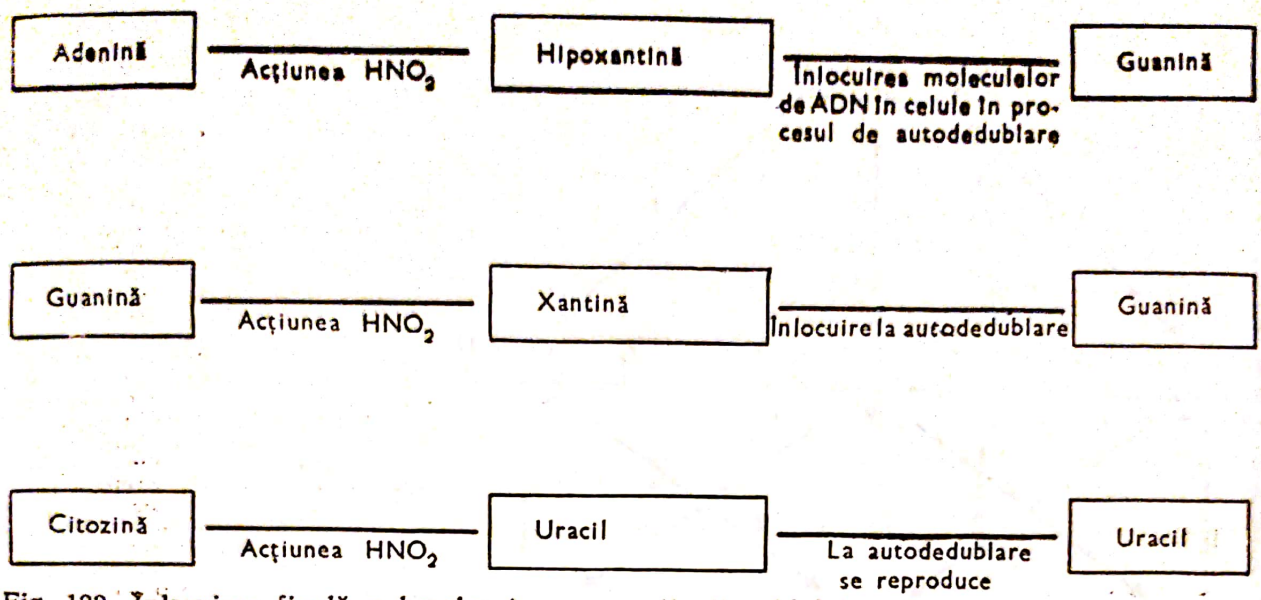


Fig. 133. Înlocuirea finală a bazelor în urma acțiunii acidului azotos.

unea acidului azotos asupra moleculei de ARN se reduce la transformarea adeninei din ADN în guanină și a citozinei în uracil (fig. 133).

După cum am mai arătat, virusul mozaicului tutunului conține o singură moleculă de ARN (fig. 17), formată din 6 500 de nucleotide, într-o secvență variată a adeninei, uracilului, guaninei și citozinei. Învelișul proteinic al virusului (fig. 17) conține 2 — 200 de subunități proteinice, fiecare dintre ele avînd masa moleculară de 17 500 și fiind constituite din cîte 158 de aminoacizi. Analiza cineticii apariției mutanților sub acțiunea acidului azotos a arătat că, la începutul reacțiilor, apariția mutațiilor este în dependență liniară directă cu durata acțiunii acidului azotos asupra virusului. Aceasta arată că mutațiile apar ca urmare a dezaminării diferitelor baze. Astfel, prin modificarea unei baze azotate din cele 6 500 ale virusului apare o mutație. În cazul infectării plantelor cu asemenea forme mutante ale virusului, acestea se înmulțesc și conțin proteine specifice, cu structură și secvență de aminoacizi modificată.

În lumina datelor cu privire la codificarea sintezei proteinelor prin triplete ale acidului nucleic se vede că modificarea dirijată a structurii chimice a moleculei de ARN, care apare sub acțiunea acidului azotos, duce la o modificare dirijată în biosinteza proteinelor.

După cum am arătat, acțiunea acidului azotos duce la transformarea adeninei în guanină și a citozinei în uracil. Să examinăm, pentru exemplificare, mersul transformărilor și bilanțul final al modificărilor care apar ca urmare a acțiunii acidului azotos asupra tripletei formate din trei molecule de citozină (CCC). Reacția de dezaminare poate afecta pe oricare din moleculele de citozină din această tripletă. Ca urmare se obțin trei triplete noi de cod care se deosebesc prin poziția diferită a citozinei transformate în uracil, și anume tripletele cu compoziția UCC (dezaminarea primei molecule de citozină), CUC (dezaminarea celei de-a doua molecule) și CCU (dezaminarea celei de-a treia molecule). În cazul acțiunii secundare a acidului azotos (fig. 134) apar noi triplete de cod, care conțin două molecule de uracil și una de citozină, și anume tripletele UUC, UCU, CUU. În sfîrșit, a treia reacție de dezaminare transformă ultima moleculă de citozină în uracil (fig. 134). Ca urmare, toate trei tripletele se transformă

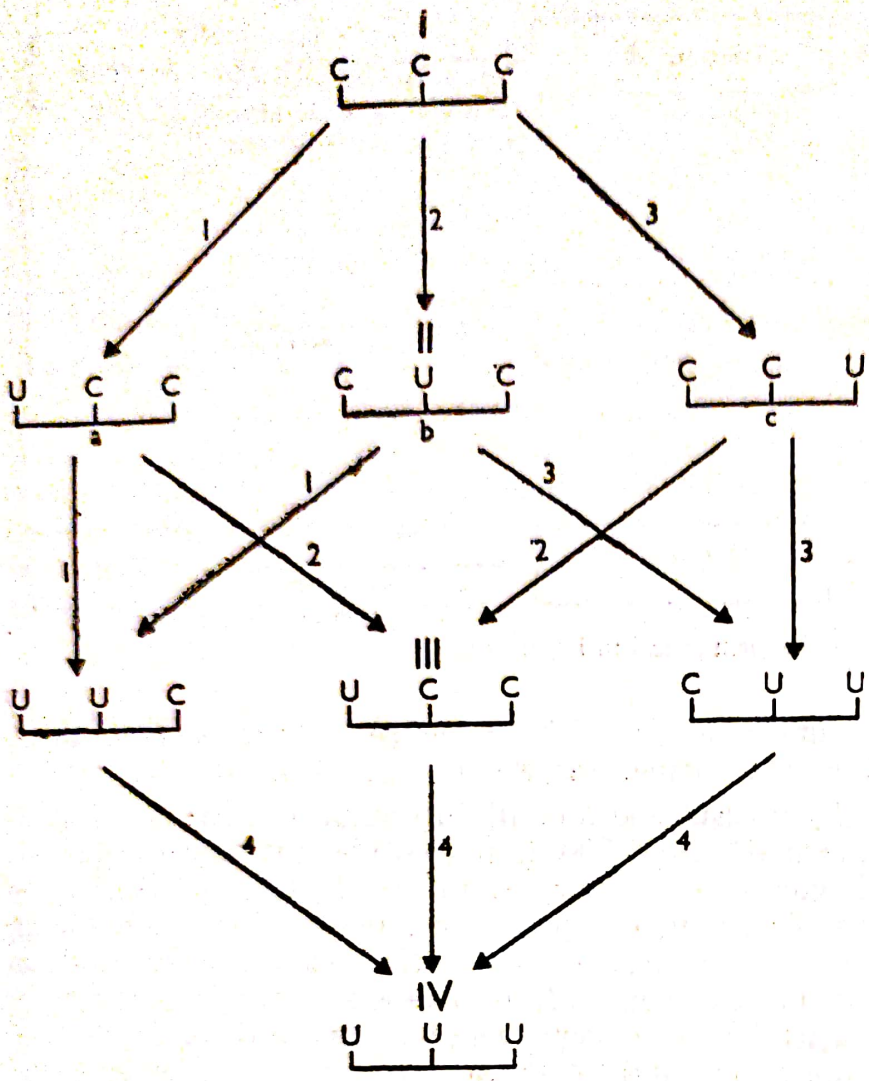


Fig. 134. Reorganizarea mutațională dirijată a bazelor tripletei de cod în molecula de ARN a virusului mozaicului tutunului sub acțiunea acidului azotos:

I. tripleta de cod inițială (citozină, citozină, citozină) care programează prezența prolinei într-o anumită verigă a proteinei (*1*, *2*, *3* — reacția de dezaminare sub acțiunea HNO_2, care transformă citozina în uracil). II. transformarea primei molecule de citozină, a celei de-a doua molecule (*2*), a celei de-a treia molecule (*3*). III. apariția unor triplete compuse din 2 *C* și 1 *U*; săgețile 1—1—2—2—3—3— a doua reacție succesivă de dezaminare sub efectul acțiunii repetate a HNO_2 (*1* — transformarea celei de-a doua molecule de citozină din tripleta *a* și a primei molecule de citozină din *b* în uracil; *2* — transformarea celei de-a treia molecule de citozină din *a* și a primei molecule de citozină în *c*; *3* — transformarea celei de-a treia molecule de citozină din *b* și celei de-a doua molecule de citozină din *c*; *4* — a treia reacție de dezaminare (săgețile 4) ce duce la înlocuirea în toate tripletele a ultimei molecule de citozină cu uracilul. IV. tripleta terminală de cod care programează proteina formată din fenilalanină.

într-o singură tripletă de triuracil — UUU. Acest tip final de tripletă nu se mai modifică sub acțiunea acidului azotos.

Dacă s-ar analiza toate tripletele posibile alcătuite din baze care pot fi modificate prin acțiunea acidului azotos, adică din adenină și citozină, ar rezulta că numărul acestor triplete poate fi opt, și anume: AAA, AAC, ACA, CAA, ACC, CAC, CCA și CCC. Dacă vom examina căile transformării lor, așa cum am făcut-o pentru tripleta CCC (fig. 135, ultimul octet), cu condiția ca să se transforme și adenina și citozina, vom obține un tablou reprezentat prin opt octete (fig. 135). Desenul cuprinde opt octete care înfățișează transformarea celor opt triplete enumerate mai sus, formate din adenină și citozină, precum și transformarea lor sub acțiunea mutagenă a acidului azotos. În funcție de corelația numerică și de poziția moleculelor de adenină și de citozină în tripleta inițială, această tripletă se transformă într-o tripletă formată din trei molecule de uracil și trei de guanină sau din ambele baze într-o ordine determinată.

Astfel, avem în fața noastră tabloul transformării chimice dirijate a grupelor de cod ale acidului nucleic sub influența unei anumite acțiuni chimice. Este vorba aici de o reacție directă, perfect determinată, între materialul genetic și factorul mutagen chimic în urma căreia are loc o modificare dirijată în structura chimică a materialului genetic descris mai sus și redat în fig. 135. S-a obținut astfel unul din principalele succese în elaborarea metodelor de transformare

Scanned with OKEN Scanner

dirijată a ereditățiI. S-a arătat că în acest caz caracterul modificării materialului genetic depinde de calitatea acțiunii mutagene.

În vederea analizei formelor de modificare dirijată a sintezei proteinelor, rezultate din transformarea dirijată a structurii chimice a ARN-ului virusului mozaicului tutunului sub acțiunea acidului azotos, au fost cercetați 108 mutanți tratați cu acid azotos. În prezent la mutanții apăruți sub acțiunea acidului azotos au putut fi identificate numai cîteva octete care indică transformările survenite în caracterul codificării care determină participarea aminoacizilor la sinteza proteinei. Două din aceste octete sînt înfățișate în fig. 136. Vedem că trecerea tripletei CCC în UUU este legată de transformarea informației genetice, care anterior codifica participarea la sinteză a aminoacidului prolina (CCC) în informația care programează participarea la această sinteză a aminoacidului fenilalanina. În concordanță deplină cu datele analizate anterior cu privire la descifrarea codului genetic și cu cele obținute prin folosirea polimerilor sintetici, are loc și transformarea codificării la mutanții mozaicului tutunului. Aceasta

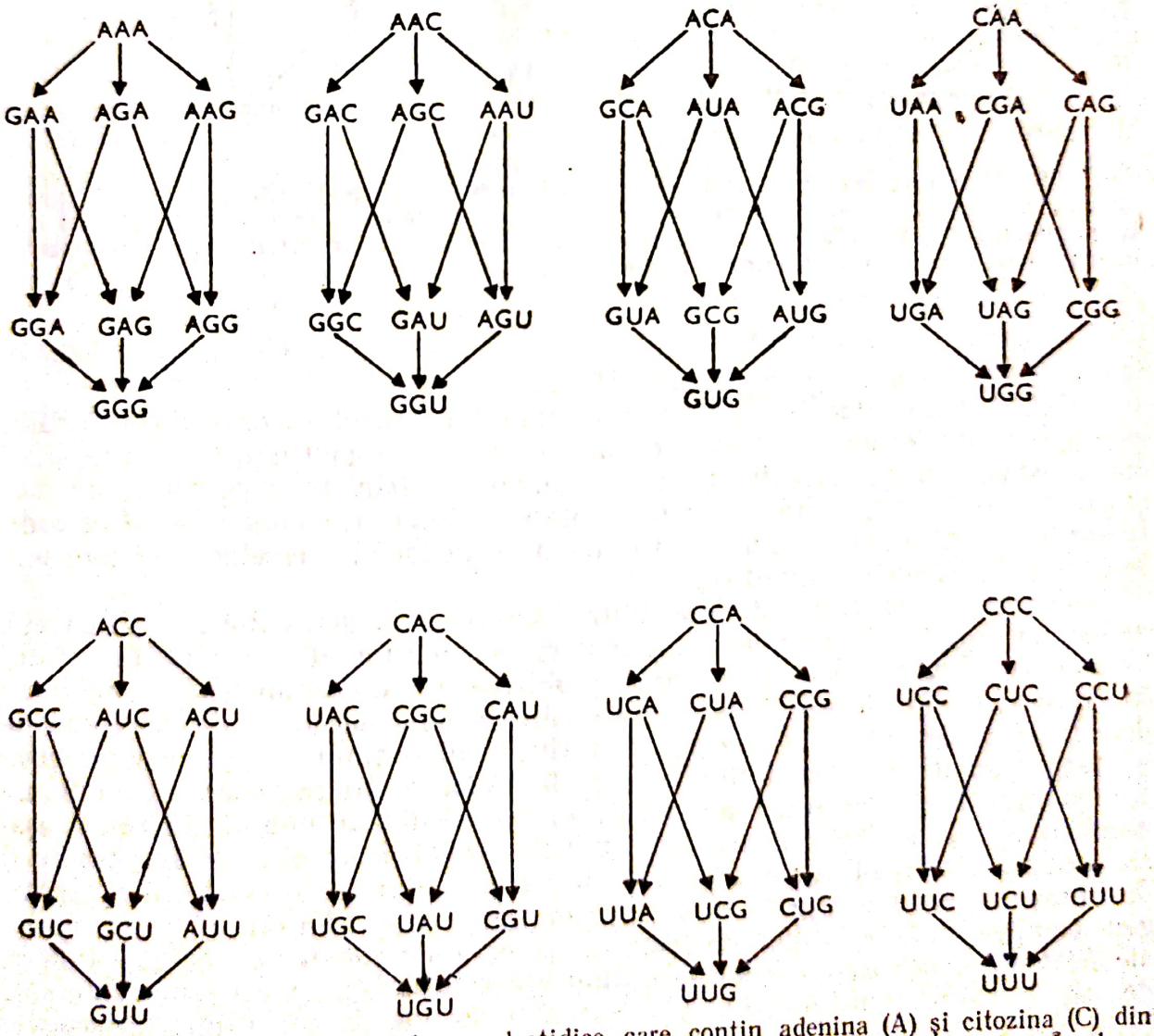


Fig. 135. Transformarea tripletelor nucleotidice care conțin adenina (A) și citozina (C) din filamentele de ARN ale virusului mozaicului tutunului sub acțiunea acidului azotos. În desen sînt înfățișate octetele de tranziție la mutanții induși de acidul azotos ai virusului mozaicului tutunului, care oglindesc reorganizările mutaționale ale tripletelor codului genetic.

Scanned with OKEN Scanner

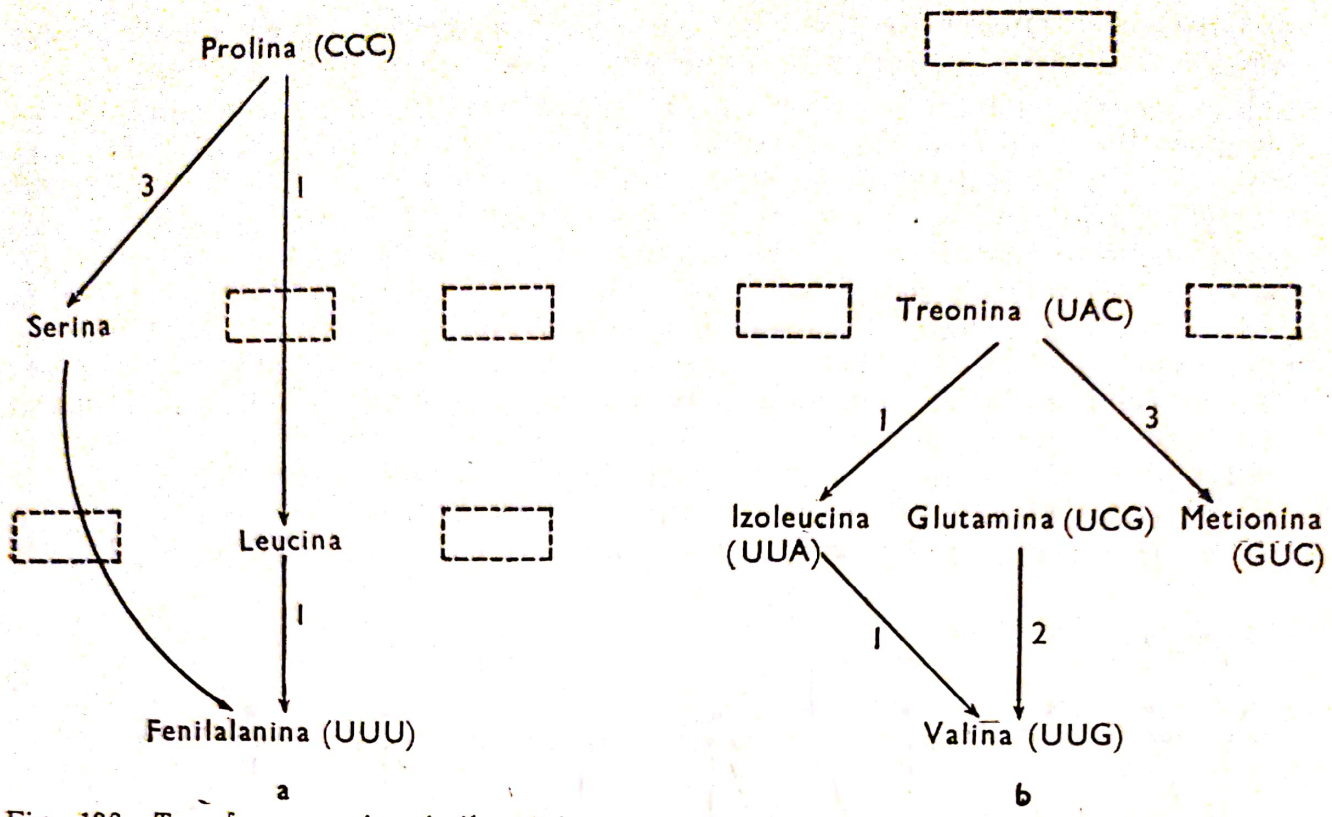


Fig. 136. Transformarea înscrierilor informației genetice (tripleta *CCC*), care mai înainte codifica participarea în sinteza proteinei a aminoacidului prolina, în informația (*UUU*) care programează participarea la această sinteză a aminoacidului fenilalanina (*a*). Același proces pentru înlocuirea de astă dată a treoninei cu valina (*b*).

s-a stabilit pe baza exemplului trecerii de la treonină la izoleucină și apoi la valină și de la glutamină la valină (fig. 136).

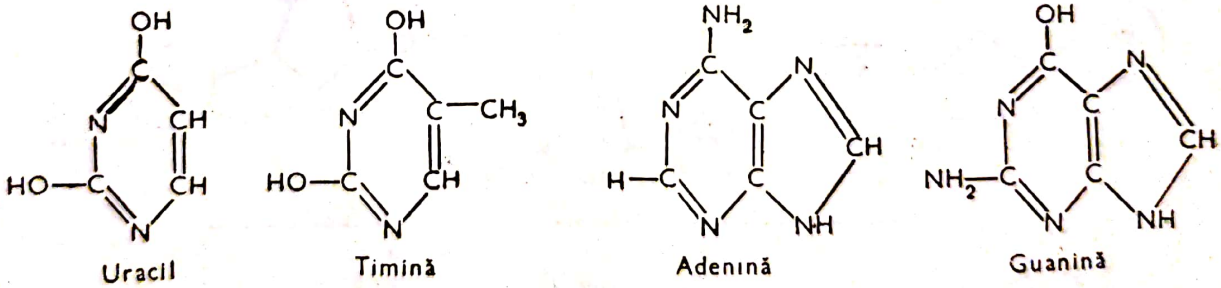
Stabilirea tripletelor de cod pe baza exemplului virusului mozaicului tutunului este primul model de descifrare a codului genetic în organismul viu. În legătură cu aceasta s-a putut stabili nu numai compoziția tripletelor de codificare, dar și poziția reciprocă, ordinea bazelor azotate în interiorul unor triplete de codificare (fig. 136), ceea ce deocamdată nu s-a putut face în cercetările în care s-au folosit polinucleotide sintetice.

Deslușirea interacțiunii directe dintre factorul mutagen chimic și structurile moleculei de ARN, care reprezintă materialul ereditar al virusului mozaicului tutunului, a permis clarificarea unor probleme din domeniul, necunoscut pînă în prezent, al transformării dirijate a eredității pe calea folosirii unor elemente determinate din punct de vedere calitativ. S-au obținut dovezi privind posibilitatea dirijării structurii chimice a moleculelor ereditare și aceasta nu numai pentru moleculele de ARN ale virusului mozaicului tutunului. Folosind așa-numiții analogi ai bazelor, s-au putut realiza modificări dirijate ale structurii chimice a ADN-ului după exemplul bacteriofagului și al bacteriilor. Însăși denumirea de analogi ai bazelor arată că în acest caz sînt folosiți ca factori mutageni compuși analogi, adică cu trăsături structurale comune cu bazele normale ale ADN-ului, dar avînd în același timp unele deosebiri. Aceste substanțe sînt de regulă numite antimetaboliți *. Ele sînt străine de organism. Deosebirile

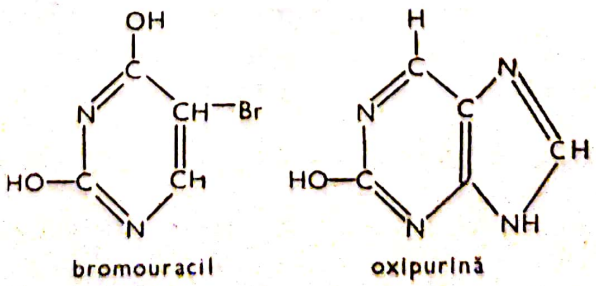
* În aceste cazuri se vorbește despre izosteri — molecule cu configurație spațială similară, dar diferite prin funcțiile organice. — *N.R.*

de structură chimică relativ mici, caracteristice antimetaboliților, constituie cauza tulburărilor apărute în desfășurarea normală a unor anumite procese vitale din celulă, atunci cînd acești compuși se substituie metaboliților celulari normali. Astfel, pătrunzînd dinafară în celulă, antimetaboliții blochează folosirea produșilor intermediari ai metabolismului, care apar în mod natural sub formă de metaboliți. Analogii bazelor introduși în celulă în timpul sintezei moleculelor de ADN iau locul bazelor normale. Apare astfel o modificare a structurii genetice ale cărei funcții sînt blocate. Astfel de analogi ai bazelor sînt, de pildă, 5-bromuracilul și 2-oxipurina (fig. 137). Vedem cît de apropiate sînt dimensiunile, cît de mare este asemănarea în ce privește compoziția și structura moleculelor de timină și de bromuracil, acesta deosebindu-se de timină numai prin faptul că, în locul radicalului metil (—CH_3), în poziția 5 se află bromul. S-a arătat că la sinteza ADN-ului, bromuracilul (BU) introdus în celulă trebuie să ocupe locul timinei în noul filament de ADN (fig. 138 *c*). Apare o pereche alterată de baze, anormală, sub formă de combinație A-BU. În cazul următoarei autoreproduceri, în unele molecule de ADN, BU formează perechi cu guanina (fig. 138 *d*). După a treia autoreproducere, perechea inițială adenină-timină este înlocuită cu o nouă pereche de baze: guanină-citozină. În experiențe pe bacterii (salmonele), prin analiza datelor referitoare la obținerea mutațiilor de la formele auxotrofe triptofan deficiente (*tript*$^-$) la forme prototrofe (*tript*$^+$), s-a stabilit cu exactitate că această înlocuire a perechilor de baze după introducerea bromuracilului se produce după trei autoreproduceri ale filamentului de ADN.

Uneori însă, pătrunderea antimetabolitului în filamentul de ADN are alte consecințe. În experiențele cu 2-aminopurină s-a descoperit că apariția particularităților mutante caracterizează celulele bacteriilor care după prima autoreproducere au inclus în ele acest antimetabolit. Astfel se formează o linie mutantă a cărei înmulțire este legată de erori des repetate în formarea perechilor de baze. Vedem (fig. 139) că în urma înlocuirii guaninei cu aminopurina și a



COMPONENTE NORMALE



FCTORI MUTAGENI

Fig. 137. Comparație între componentele normale care intră în structura moleculei de acid nucleic și analogii bazelor (5-bromuracil și 2-oxipurina) care sînt factori mutageni.

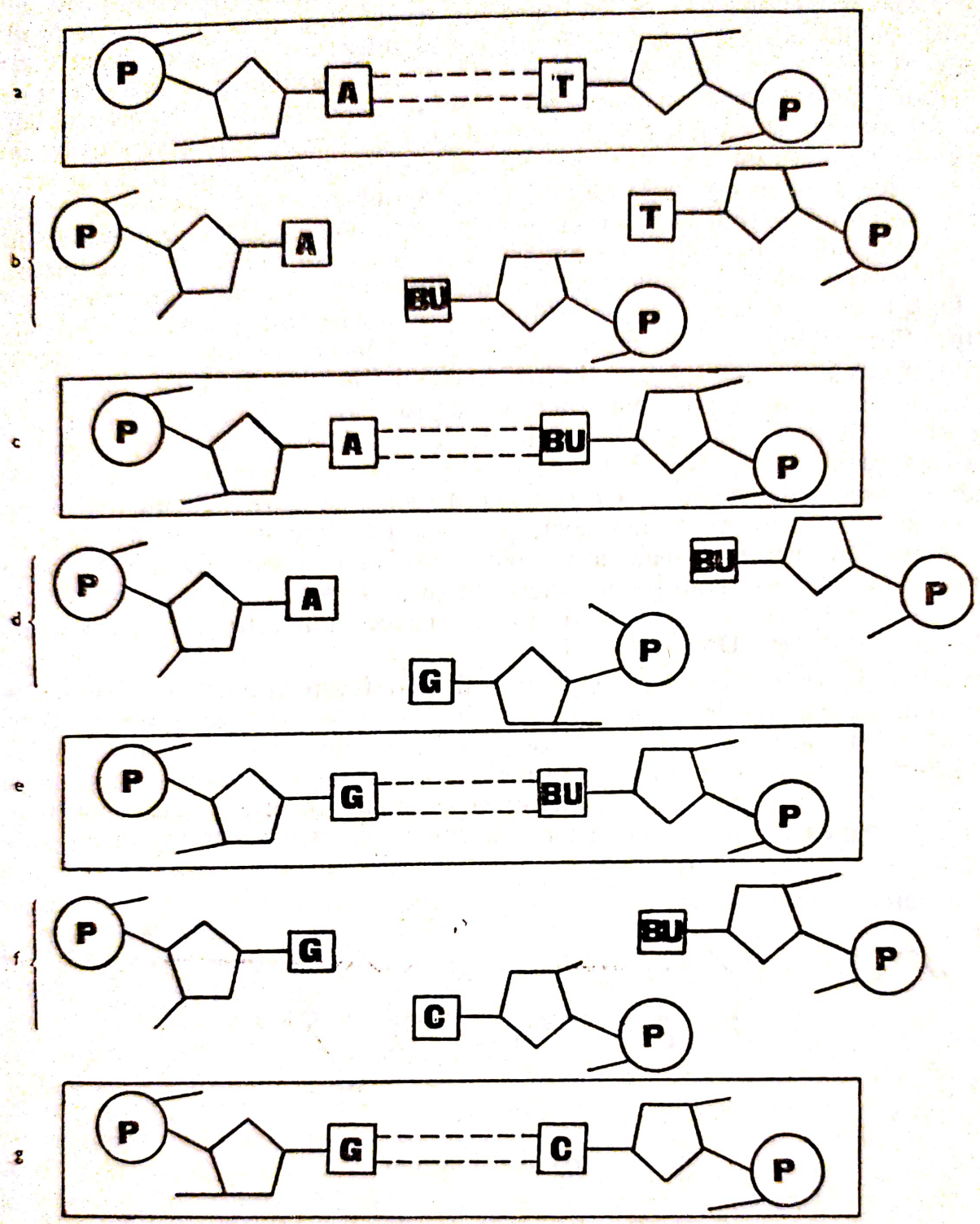


Fig. 138. Efectul mutagen al antimetaboliților (analogii bazelor) acizilor nucleici, legat de înlocuirea unei perechi de baze:

a — perechea inițială de baze (adenină-timină); *b* — prima autoreproducere; *c* — înlocuirea timinei cu antimetabolitul bromuracil (*BU*); *d* — a doua autoreproducere; *e* — formarea unei perechi din guanină și antimetabolitul bromuracil; *f* — a treia autoreproducere; *g* — o formă mutantă stabilă avînd o pereche de baze (guanina-citozina) care a înlocuit perechea de baze *A—T* (vezi *a*) existentă înainte în acest loc în filamentul de ADN.

Scanned with OKEN Scanner

formării, la prima autoreproducere a filamentului de ADN, a unei perechi de bază și antimetabolit (citozină-aminopurină) are loc modificarea mutantă a bacteriilor. După a doua autoreproducere a filamentelor de ADN, eroarea în formarea perechilor de baze duce la apariția unei perechi sub formă de timină-aminopurină. Bacteriile care formează combinația de aminopurină cu timină în compoziția ADN-ului se manifestă de asemenea ca fenotip mutant. A treia autoreproducere duce la formarea a două noi perechi deosebite de baze (fig. 139). Timina formează o pereche cu adenina, ceea ce are ca rezultat faptul că prin prezența în continuare a antimetabolitului (aminopurina) perechea inițială guanină-citozină este înlocuită cu perechea timină-adenină. Astfel, după a treia autoreproducere a ADN-ului, în urma pătrunderii antimetabolitului apare o nouă tulpină mutantă stabilă. Pe de altă parte, antimetabolitul se combină cu citozina și formează perechea citozină-aminopurină. Bacteriile care au această nouă pereche de citozină-antimetabolit manifestă din nou caractere mutante și continuă linia mutantă instabilă care servește ca sursă pentru apariția de noi și noi variații (fig. 139). Această experiență cu un antimetabolit, a cărei pătrundere în filamentul de ADN duce la apariția proprietăților mutante ale celulei bacteriene, arată de asemenea posibilitatea ca numai un filament din structura dublă a ADN-ului să dispună de informația genetică. Această problemă am discutat-o și mai înainte. În cazul de față, această concluzie rezultă din faptul că la introducerea antimetabolitului în combinațiile sale cu oricare dintre baze asigură fenotipul mutant. Prezența antimetabolitului are un caracter dominant — am putea spune —, indiferent de modificările în al doilea filament complementar al ADN-ului, ceea ce arată că tocmai acest filament marcat prin antimetabolitul pătruns în el este purtătorul informației genetice în molecula bicatenară de ADN.

Fără îndoială că cheia dirijării eredității se află în cunoașterea bazelor moleculare ale codului genetic, adică a particularităților structurale ale acizilor nucleici. Fenomenele de transducție și transformare descrise mai sus au loc la nivelul molecular al eredității, ceea ce este demonstrat prin izolarea chimică a diferite molecule de ADN, active din punct de vedere biologic. Pot fi indicate o serie de noi căi de cercetare, deschizătoare de perspective. Astfel, lucrări noi ne apropie de posibilitatea hibridării la nivel molecular pe calea denaturării, iar apoi a restabilirii moleculelor de ADN extrase din diferite tulpini de bacterii. Au fost obținute molecule hibride de ADN prin refacerea structurilor bicatenare din ADN-ul monocatenar izolat dintr-o tulpină mutantă de pneumococ rezistentă la streptomicină și din pneumococ de tip sălbatic. În experiențe pe bacterii din grupa bacilacee se arată posibilitatea obținerii de molecule hibride de ADN de la specii apropiate, diferite din punct de vedere genetic.

Pentru problemele de dirijare a eredității are o mare însemnătate studierea unei noi categorii de elemente genetice care au căpătat denumirea de episomi. Un studiu mai amplu s-a făcut asupra fenomenului de lizogenie, în care bacteriofagii temperați au proprietatea surprinzătoare de a fi integrați în celulă. Materialul genetic al fagului se atașează cromosomului bacterian și devine oarecum o parte a aparatului lui ereditar. În această stare, în care este denumit profag, fagul temperat se înmulțește împreună cu cromosomul bacterian, fiind supus acțiunii mecanismelor de reglare. S-a demonstrat că profagul poate face schimb de material genetic cu cromosomul bacteriei. Astfel, acizii nucleici cu valoare genetică ai fagului temperat, o dată intrați în celula bacteriană, sînt incluși în structura genetică a acesteia. S-a demonstrat că în urma unor mutații,

Scanned with OKEN Scanner

profagul pierde facultatea de a trece în stare vegetativă, adică se transformă pentru totdeauna într-un element al cromosomului, propriu tulpinii bacteriene respective.

Din exemplul lizogeniei se vede cum fagul infectant, care de regulă se înmulțește în citoplasmă, trece de aici în cromosom și devine temporar o parte a acestuia. Proprietatea episomului de a se găsi fie în stare autonomă în citoplasmă, fie în stare integrată în cromosom îl deosebește de celelalte structuri ereditare. Din categoria episomilor face parte și factorul de fertilitate al bacteriilor. S-a demonstrat că factorul de fertilitate aflat în cromosom se poate combina cu sectoare ale cromosomului bacterian, și anume cu locusul care controlează sinteza prolinei sau cu locusul care controlează fermentarea lactozei, ca și cu alte sectoare. O dată cu trecerea factorului de fertilitate în stare autonomă, genele cromosomice bacteriene captate de el dobîndesc proprietățile elementelor citoplasmatice. S-a stabilit că rezistența simultană față de streptomicină, tetraciclină cloramfenicol și sulfamide poate fi transmisă de fag în grupul shigellelor și de la shigelle la alte grupe, ca *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Proteus*. Factorii acestei rezistențe generale sînt episomii, care în unele cazuri au caracter citoplasmatic, iar în altele sînt integrați în structura cromosomilor bacterieni.

Analiza problemelor de ereditate episomică prezintă o importanță extrem de mare pentru lămurirea interacțiunii dintre fagi și bacterii, deci și pentru problema generală a corelației dintre ereditate și infecție, cît și pentru dezvăluirea naturii raporturilor dintre ereditatea nucleară și cea citoplasmatică. Ereditatea episomică încă n-a fost studiată prin metodele de producere experimentală a mutațiilor. Aici sînt mari posibilități atît pentru analiza naturii episomilor, cît și pentru dirijarea acestui tip de ereditate.

În unele lucrări au fost descoperite noi căi care au arătat posibilitatea intervenției fagului în procesul de formare a ARN-ului de informație. Datele obținute prezintă interes și pentru analiza structurii moleculare a însuși materialului genetic. S-a arătat că informația genetică a ADN-ului se transmite prin ARN-i care codifică sinteza proteinei. Dacă în timpul formării moleculelor de ARN-i s-ar reuși să se modifice compoziția lor prin introducerea de analogi ai bazelor, s-ar putea produce modificări în sinteza proteinei. Dat fiind că aceste modificări nu ar afecta moleculele de ADN, iar genotipul fagului nu ar fi atins, am obține modificări pur fenotipice în caracterele fagului. Un mare interes prezintă analogul uracilului, și anume 5-floruracilul (5-FU), care pătrunde ușor în ARN substituindu-se uracilului. Totodată s-a arătat că la introducerea a 5-FU are loc o perturbare a sintezei enzimelor β-galactozidaza și fosfatază, a căror sinteză este legată de acțiunea regiunii *r*-II a bacteriofagului. Mutanții din regiunea *r*-II nu pot să crească pe tulpina rezistentă (*K*) de *E. coli*. S-a constatat că adăugarea a 5-FU după infectarea cu fagul mutant duce la revenirea parțială la normal a fenotipului mutantului, ceea ce are ca rezultat dezvoltarea fagului în celula bacteriană a tulpinii *K*. Această reacție este foarte specifică și se observă numai la unii mutanți *r* II. Dat fiind că după infecția cu fag sinteza ARN-r și a ARN-s este aproape în întregime reprimată, efectul moleculelor de 5-FU este legat de pătrunderea lui în lanțurile de ARN-i. 5-FU, asemenea citozinei, formează perechi cu guanina. De aceea, ocupînd în ARN-i locul uracilului, el își asumă în cod funcția citozinei. În fig. 140 este înfățișat mecanismul posibil al acțiunii specifice a 5-FU, realizată prin modificări în structura moleculelor de ARN-i. Compoziția ADN-ului în fagul normal se deosebește de mutația perechii citozină-guanină (C-G) prin perechea timină-adenină (T-A). ARN-i al fagului nor-

Scanned with OKEN Scanner

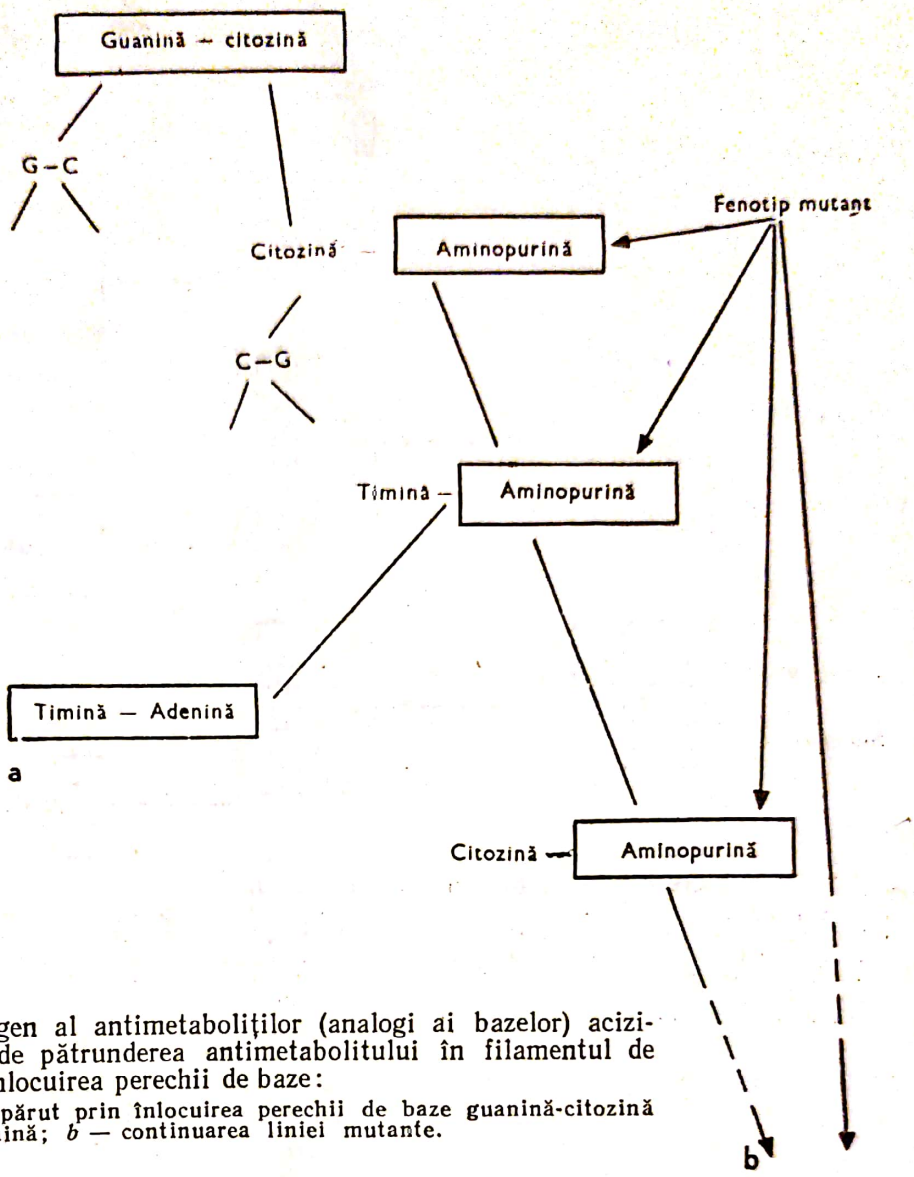


Fig. 139. Efectul mutagen al antimetaboliților (analogi ai bazelor) acizilor nucleici legat atît de pătrunderea antimetabolitului în filamentul de acid nucleic, cît și de înlocuirea perechii de baze:
a — clon mutant stabil apărut prin înlocuirea perechii de baze guanină-citozină cu perechea timină-adenină; *b* — continuarea liniei mutante.

mal poartă o fază complementară, și anume citozina, doar atunci cînd din cele două lanțuri ale sale numai unul funcționează din punct de vedere genetic.

Ajungînd în ribosom, această moleculă a ARN-i codifică participarea la sinteza proteinelor a aminoacidului (*X*) pe care îl conține molecula ARN-s cu baza complementară corespunzătoare, în cazul de față, cu guanina. În cazul fagului mutant, molecula ARN-i poartă uracilul, baza sa complementară în molecula ARN-s fiind adenina, în urma cărui fapt la sinteza proteinei participă un nou aminoacid (*Y*). În cazul adăugării de 5-FU, acesta ocupă în molecula de ARN-i locul uracilului, la care baza complementară din ARN-s este guanina. Ca urmare, acest ARN-i al fagului mutant sintetizează proteina normală (*X*) (fig. 140).

Acțiunea factorilor mutageni permite să se localizeze pe harta filamentului de ADN al fagului anumite nucleotide. Analogii bazelor, incluzîndu-se în filamentul de ADN în momentul autoreproducerii sale, duc la apariția unor mutații pe seama înlocuirii dirijate a perechilor de baze. A fost pusă în evidență marea eficacitate a 2-aminopurinei (2-AP) și 5-bromodezoxiuridinei (5-BDU). Acțiu-

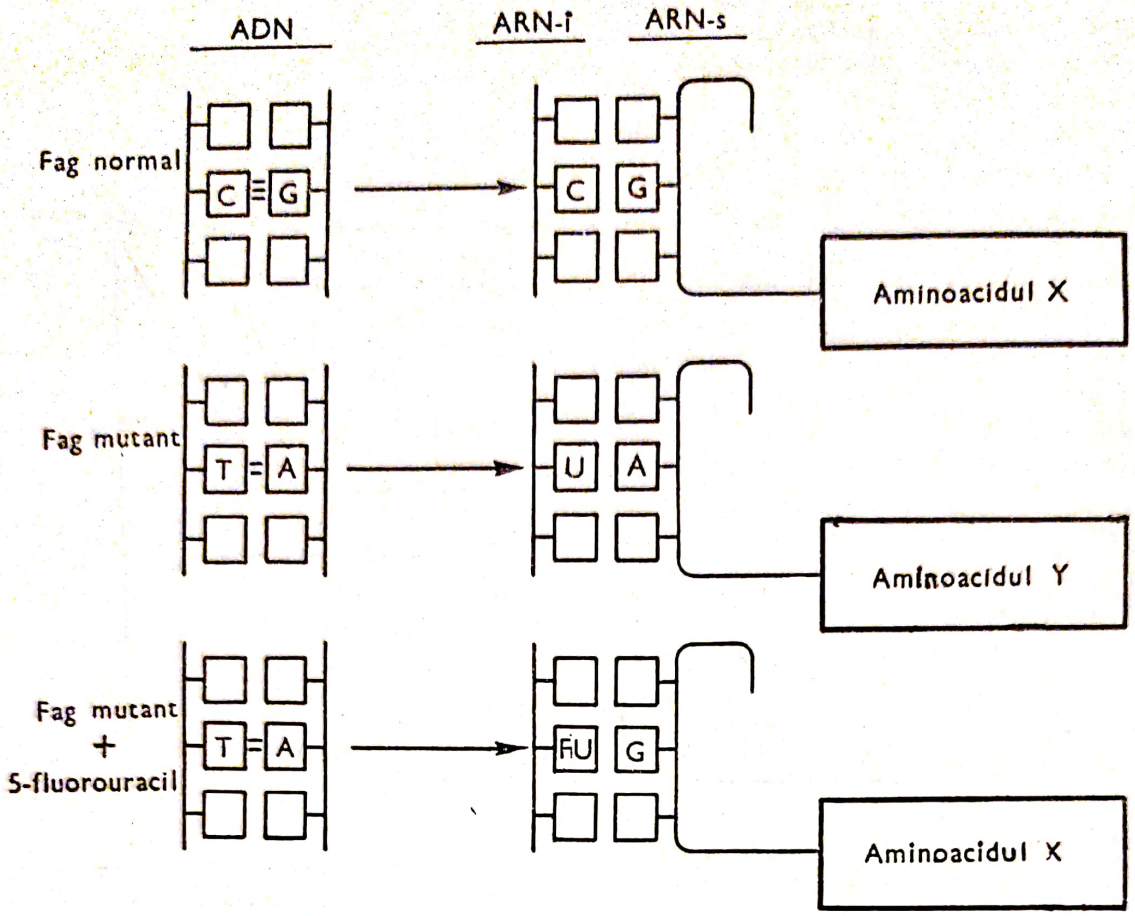


Fig. 140. Mecanismul de acțiune a 5-floruracilului.

Perechea de baze *G—C* din ADN al fagului normal care determină apariția bazei *C* în molecula de ARN-i. Interacționînd cu baza *G* din molecula ARN-s, acest ARN-i asigură participarea aminoacidului specific (*X*) la sinteza proteinei. La fagul mutant prezența perechii *TA* are ca rezultat participarea la sinteză a aminoacidului genic (*Y*). În cazul prezenței floruracilului, acesta înlocuiește uracilul (*U*) din ARN-i și, pe de altă parte, interacționînd cu *G* din ARN-s duce la participarea din nou la sinteză a aminoacidului normal inițial (*X*).

nea acestor analogi este foarte specifică, iar mutanții, sub acțiunea analogilor, dau de regulă mutații inverse. Pornindu-se de la faptul că mutanții produși de BDU dau deseori mutații inverse sub acțiunea a 2-AP și invers, s-a presupus că unul din acești doi factori creează condițiile pentru trecerea perechii *GC* în perechea AT, iar celălalt a perechii AT în perechea GC. După cum s-a arătat în experiențele cu hidroxilamina, citozina și derivații săi reacționează mai puternic decît alte baze ale ADN-ului. Este greu, desigur, să se extrapoleze de la reacțiile chimice la procesele mutaționale din cromosomi. S-a arătat că hidroxilamina dă, într-adevăr, puține reacții cu timina. Însă reacția hidroxilaminei cu citozina din ARN slăbește în cazul unei creșteri a pH-ului, iar reacția cu uracilul devine mai intensă. S-a studiat acțiunea mutagenă a hidroxilaminei asupra mutantului AP 275 și asupra altor șase mutanți la pH 6, 7,5 și 9. S-a constatat că frecvența mutațiilor inverse la toți cei șapte mutanți se află în raportul de 28 : 12 :1. Pentru reacția chimică a hidroxilaminei cu citozina s-a găsit la același pH raportul de 32 :13 :4, iar pentru uracil-1 :13 :30.

Aceasta arată că hidroxilamina condiționează în filamentul de ADN fagic trecerea perechii de baze GC în perechea AT. Prezența în acțiunea mutagenă a acestei corelații evidente între hidroxilamină și BDU permite să se considere că efectul BDU interesează aceeași pereche de baze. Acțiunea a 2-AP a fost mai puțin specifică.

Scanned with OKEN Scanner

Aproape jumătate din mutațiile provocate de ea sînt reversibile sub acțiunea hidroxilaminei. Se vede că 2-AP afectează în egală măsură ambele perechi (AT și GC). Toate acestea permit să se stabilească reguli pentru determinarea perechilor de baze din mutanți. În cazul producerii de mutații inverse sub acțiunea a 2-AP pot fi afectate ambele perechi de baze. Sub acțiunea BDU și a hidroxilaminei, perechile mutante sînt reprezentate de bazele C-G. Dacă acești factori mutageni sînt ineficienți, atunci mutantul conține perechea A-T.

Printre cei 339 de mutanți studiați s-au stabilit patru grupe. Din prima și a doua grupă fac parte mutanții care dau mutații inverse sub acțiunea a 2-AP și nu reacționează la BDU. Aceasta arată că mutanții conțin perechea AT, adică ei apar prin modificarea GC în AT. În fagul normal acest loc din filamentul de ADN este ocupat de perechea G-C. A treia grupă constă din mutanții care reacționează nu numai la acțiunea a 2-AP, ci și la aceea a BDU. Dacă mutanții reacționează la hidroxilamină, se poate considera că ei conțin perechea G-C, iar fagul normal — perechea A-T. Mutanții din a patra grupă nu dau mutații inverse sub acțiunea analogilor bazelor; ei pot fi transversii, adică echivalente în care este tulburată așezarea purinei sau pirimidinei prin mici deleții, sau, în sfîrșit, prin inserări. Pentru acești mutanți nu este posibil să se stabilească compoziția nucleotidică inițială a locusului mutant. În fig. 141 este arătată poziția mutanților a căror compoziție nucleotidică a fost studiată prin mutația inversă sub acțiunea a 2-AP, BDU și hidroxilaminei. Mutanții care nu dau mutații inverse sub acțiunea a 2-AP și BDU sînt reprezentați sub formă de cercuțe albe, iar cei care dau mutații inverse, prin cercuțe negre.

Pornindu-se de la această analiză moleculară a hărții genetice s-au efectuat experiențe privind efectul 5-floruracilului. Din 20 de mutanți care se refac sub acțiunea a 5-FU, 17 fac parte din cei care dădeau mutații inverse sub acțiunea a 2-AP. Aceasta arată că 5-FU pătrunde în ARN-i corespunzător perechii A-T din ADN fagic. El înlocuia uracilul și acționa ca citozină. Însă 29 de mutanți de același tip n-au reacționat la introducerea de 5-FU. Aceasta arată că numai un singur filament din molecula dublă de ADN, fiind genetic eficient, reprezintă sursa pentru sinteza moleculelor de ARN-i. Eficiența 5-FU se manifestă numai în cazurile cînd A (adenina) ajunge într-un filament genetic eficient de ADN (fig.142). Există și alte date de genetică care demonstrează că în ADN numai un singur filament este activ din punct de vedere genetic. Același lucru rezultă din experiențele pentru studierea compoziției bazelor din ARN-i izolat din fagul *TU*. S-a constatat o însemnată modificare a compoziției ADN-ului și ARN-ului, ceea ce vădește activitatea unui singur filament de ADN.

Dirijarea mutațiilor la nivel molecular își propune ca sarcină obținerea unor modificări de structură chimică la anumite locusuri ale cromosomului, sub acțiunea unor factori calitativi specifici. Ca punct de plecare pentru rezolvarea acestei importante probleme s-au folosit antimetaboliții și reacția specifică a acizilor nucleici cu acidul azotos.

După cum am văzut mai sus, în experiențele cu virusul mozaicului tutunului asupra ARN-ului izolat s-a acționat *in vitro* cu acid azotos (HNO_2) și s-au obținut mutanți care se manifestau pe foile plantei după inocularea virusului preparat. Acidul azotos dezaminează nucleotidele, înlocuind radicalul — NH_2 cu oxigen, în urma căruia fapt adenina, guanina și citozina se transformă în oxibaze. După aceea însă, la autoreproducerea filamentului de ARN, hipoxantina și xantina sînt înlocuite cu guanina. Ca urmare, adenina se transformă în guanină, iar citozina în uracil.

Scanned with OKEN Scanner

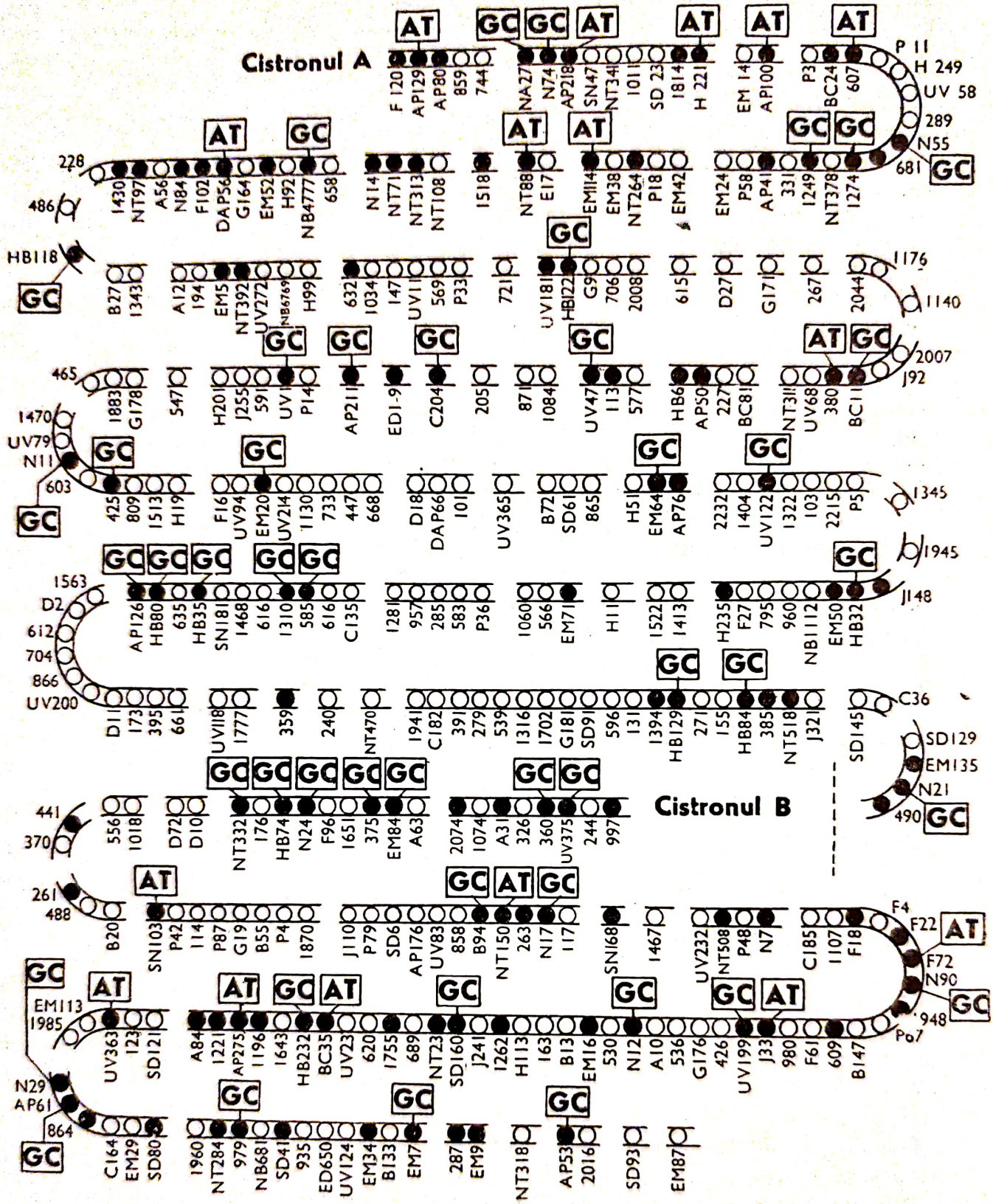


Fig. 141. Harta moleculară a regiunii genetice *r* II la fagul T_4, cu localizarea pe aceasta a perechilor de baze, întocmită pe baza experienţelor de mutaţii inverse a microlocusurilor, sub acţiunea 2-aminopurinei, bromuracilului şi hidroxilaminei. ● — locus mutant; O — locus care nu a dat mutaţii inverse.

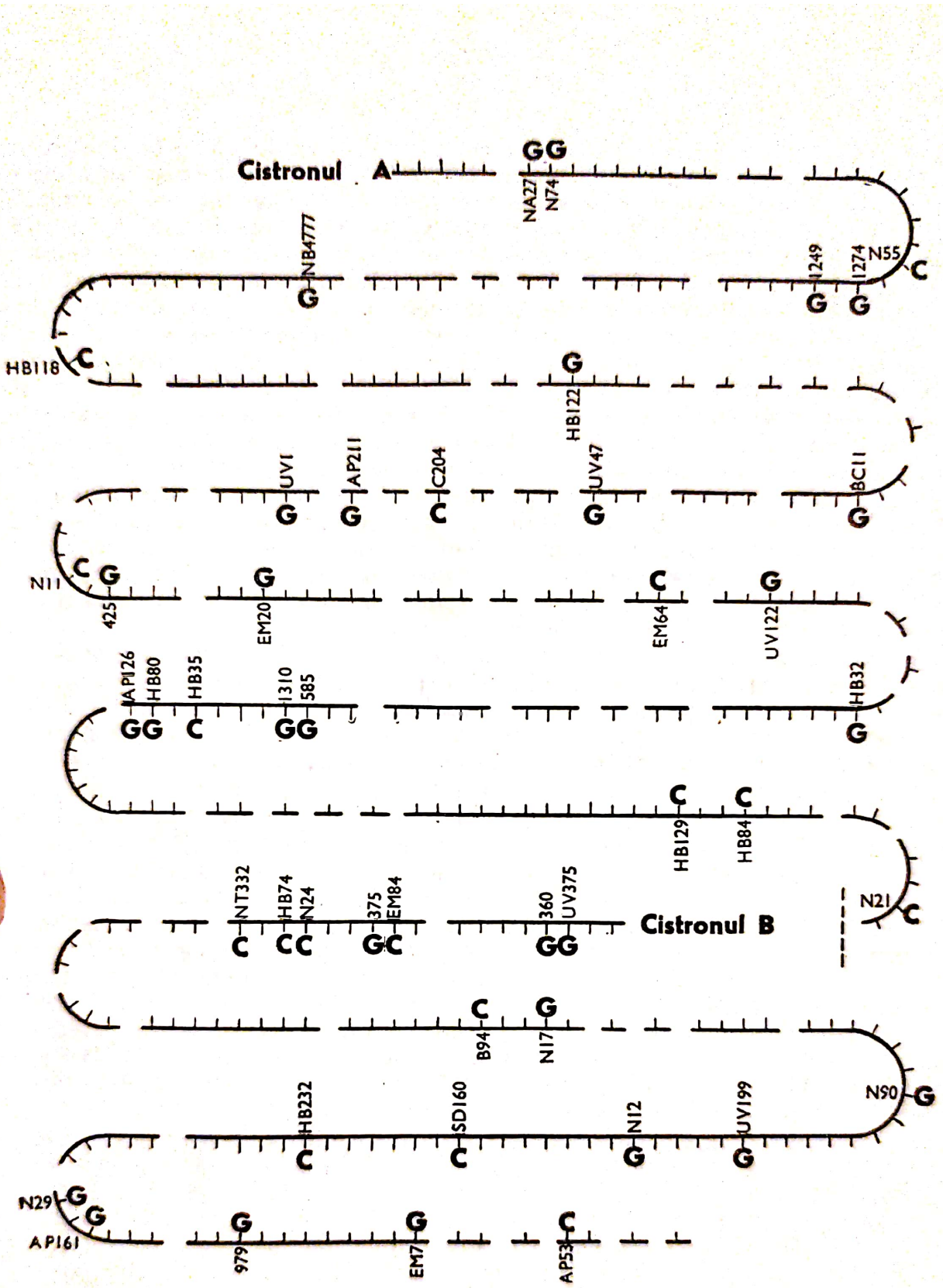


Fig. 142. Harta repartiției locurilor de apariție a moleculelor de ARN-i în diferite porțiuni ale regiunii *r* II la fagul T_4.

Astfel, acțiunea acidului azotos duce la transformarea dirijată a tripletelor de cod ale ARN-ului. Dacă vom lua ca exemplu o tripletă din trei molecule de citozină, care, după cum s-a arătat în experiențele cu polimeri sintetici, codifică aminoacidul prolina, rezultă că sub acțiunea HNO_2 ea se transformă în ultimă instanță într-o tripletă din trei molecule de uracil. Această tripletă codifică fenilalanina. Avem în față tabloul transformării chimice dirijate a grupelor de cod ale acidului nucleic sub efectul unei anumite acțiuni chimice.

În experiențele cu antimetaboliți — analogi ai bazelor — s-a demonstrat, după cum am văzut, că în cazul introducerii lor în celule ei se plasează în timpul sintezei moleculelor de ADN în locul bazelor normale. Astfel, bromuracilul ia locul timinei. Apare o pereche de baze sub formă de adenină — bromuracil. La a doua autoreproducere BU formează o pereche cu guanina, iar aceasta din urmă, la a treia reproducere, formează perechea guanină-citozină. În experiențele cu *Salmonella* s-a arătat, de asemenea, cum perechea inițială de baze adenină-timină este înlocuită sub acțiunea bromuracilului cu perechea guanină-citozină.

În cazul folosirii 2-aminopurinei, particularitățile mutante apar imediat, chiar în celulele bacteriene al căror ADN a înglobat la prima autoreproducere acest antimetabolit. O astfel de linie produce tulpini mutante stabile, purtătoare ale unor noi combinații de perechi de baze.

Primele succese în transformarea dirijată a structurii chimice a acizilor nucleici sînt foarte promițătoare. Ele deschid calea spre dirijarea chimică a structurilor ereditare. Oricît am aprecia însă posibilitățile de dirijare a mutațiilor la nivel molecular pe calea transformării chimice a acizilor nucleici, trebuie să spunem că deocamdată problema dirijării vieții nu este pe deplin rezolvată.

Nivelul molecular al organizării eredității este numai o parte a organizării complexe a celulei și a întregului organism. Chiar după primele acțiuni ale informației genetice asupra celulei se observă manifestări ale legităților de sistem. Este bine cunoscut rolul genelor structurale purtătoare ale informației relative la structura moleculelor care sintetizează proteinele. Însă analiza genetică a enzimelor adaptative, a fenomenelor de inducție și represie în celula bacteriană au permis să se arate că în afara genelor structurale există gene reglatoare și operatoare care controlează însăși posibilitatea de sinteză a proteinelor, reglează viteza și alte particularități ale sintezei. Gena-operator se află sub controlul genei reglatoare; ea cuprinde acțiunea genelor structurale organizate în sistemul operonului respectiv. Astfel, procesele de formare a moleculelor de ARN-i pe moleculele matriță de ADN ale genelor structurale sînt controlate de un sistem genetic reglator special.

Așadar, avem în fața noastră tabloul unui dublu control genetic asupra sintezei proteinei, pe de o parte de către genele structurale și pe de altă parte de către un sistem de gene care reglează activitatea operonului. Dar procesul de sinteză a oricărei proteine are loc într-un sistem celular integru; el este posibil numai în cazul existenței în celulă a unui flux enorm de informații și a unui mecanism reglator uimitor de bine pus la punct. În cazul acțiunii genelor structurale avem de a face cu transmiterea informației prin ARN-i, care ajung în ribosomi.

Acest aflux de informații este întîmpinat de aminoacizi activați prin intermediul pH5-enzimelor și al ARN-ului solubil. Pentru întîmpinarea acestui aflux în ribosomi, ca și pentru apariția și funcționarea ribosomului însuși este necesar ca biosinteza aminoacizilor să treacă printr-un control genetic special în vederea sintezei precursorilor moleculelor de ARN-i și ARN-s etc. Acestea ar fi, în linii mari, elementele sistemului vital celular, luat în ansamblu. Gene-

Scanned with OKEN Scanner

tica moleculară studiază în acest sistem poziţiile cheie, însă dirijarea vieţii înseamnă dirijarea sistemului celular şi a organismului în ansamblu.

În problema cancerului ne-am lovit tocmai de această modificare de sistem a celulei, modificare a cărei trăsătură principală este ieşirea celulelor capabile de creştere malignă de sub controlul mecanismelor regulatoare ale organismului în ansamblu. Marile eforturi care se depun în prezent pentru a rezolva enigma cancerului scot mereu la iveală noi proprietăţi ale celulei canceroase, însă esenţa celulei canceroase, ca sistem nou, rămîne necunoscută. Citogenetica celulei canceroase arată că în multe cazuri există o legătură între malignitate şi alterările cromosomilor. Durata ciclului celular este modificată. Concordanţa în sinteza proteinelor şi a ADN-ului, existentă într-o celulă normală la începutul fazei sintetice din interfază, este tulburată. Însă toate acestea nu sînt decît urmarea unor modificări radicale în sistemul celular, pe care pînă în prezent nu le cunoaştem.

Enigma dezvoltării individului, aceea a diferenţierii celulare nu poate fi elucidată pînă cînd nu vom înţelege modificările sistemului celular. Ştim bine că informaţia genetică în formă integră este proprie aproape tuturor celulelor individului, în special în primele etape ale dezvoltării sale. Totodată au loc dezvoltarea şi diferenţierea. Care este deci cauza integrării unor fluxuri de informaţie ereditară şi ce anume creează piedici pentru acţiunea altor fluxuri, în ce mod se realizează aceste procese pentru diferite celule şi cînd se modifică acest sistem pe măsura dezvoltării individului?

Dat fiind că celulele organismului conţin, în esenţă, nuclee integre, este clar că funcţionarea diferenţiată a nucleelor trebuie să fie legată de o activitate deosebită a diferitelor porţiuni ale cromosomilor. Cercetări directe cu privire la acest gen de diferenţiere citofiziologică a cromosomilor s-au făcut numai pentru două categorii de fenomene. Se ştie de mult că în nucleele oocitelor de la o serie de specii de animale cromosomii se măresc acoperindu-se de o serie de prelungiri. Aceşti cromosomi au căpătat denumirea de cromosomi în „perie de lampă". Nu de mult s-a descoperit că o cauză a apariţiei unei singure prelungiri este activitatea metabolică mărită a unui locus al cromosomului, care duce la hipertrofierea structurală a acestui locus. În prelungiri se sintetizează ARN, care trece apoi în citoplasma oocitului. S-a calculat că în oocitul unei amfibii numărul acestor prelungiri ale cromosomilor este de cîteva sute. Dat fiind că numărul genelor este cu mult mai mare, se pare că specializarea oocitului şi perioada iniţială a dezvoltării sînt legate de acţiunea intensă a unei anumite părţi a informaţiei ereditare.

Un alt caz este acela al diferenţierii cromosomilor giganţi din nucleele celulelor din glandele salivare ale larvelor de drosofila şi ale altor diptere. S-a constatat că apariţia unor turgescenţe neobişnuite pe unele porţiuni ale cromosomilor, a zonelor *puffy**, este specifică pentru diferite stadii de dezvoltare a larvei. Cercetările autoradiografice au arătat că fiecare zonă *puffy* este locul unei sinteze active de ARN, de proteină şi chiar de ADN. Mutaţiile unor anumite gene sînt legate de apariţia sau de dispariţia anumitor zone *puffy* prin aşezarea nucleelor celulelor glandelor salivare în citoplasma omogenizată a embrionilor într-o parte, în stadiul timpuriu al dezvoltării lor, şi în altă parte în stadiul tardiv al dezvoltării lor. În fiecare din aceste cazuri apărea un tablou caracteristic de repartizare a zonelor *puffy*, adică un tablou de activitate metabolică a genelor pe cromosomi. Prin introducerea hormonilor care determină metamorfoza larvei în pupă, numai după 15 minute apare o nouă zonă *puffy*, după care, la interval de 5—20 de ore, apare cîte o grupă de zone *puffy* caracteristice, proprie

* *Puff* = umflătură, *puffy* = umflat cu aer, pufos (în limba engleză). — *N.R.*

stadiilor metamorfozei. Avem în față imaginea activării diferitelor locusuri ale cromosomului (acțiunea inductorului asupra genei), a legăturii dintre funcția acestor locusuri și dezvoltarea și activarea în continuare a unei noi grupe de gene, precum și a dependenței acestei activări de condițiile interne și externe ale dezvoltării.

Toate acestea arată cît de complexe sînt asemenea „mașini cibernetice" cum este organismul, în a cărui structură programul este introdus pe cale genetică. Pentru a dirija această „mașină" trebuie să se cunoască nu numai programul original. În procesul dezvoltării acest program modifică emiterea informației în funcție de condițiile interne și externe, conținutul ei cuprinzînd mai multe elemente asupra cărora acționează. Dirijarea vieții cere rezolvarea problemei eredității la nivelul molecular al celulei, precum și cunoașterea modului în care se realizează integral ereditatea în procesele de dezvoltare a individului în cursul vieții și la îmbătrînire.

Etapele menționate în acest capitol arată clar că noile cercetări cu privire la mutageneza chimică inaugurează o eră nouă de investigație experimentală a naturii chimice a reacțiilor directe, care au loc între materialul genetic și anumiți compuși chimici introduși în celulă.

Aceste lucrări sînt o nouă dovadă că ADN-ul și ARN-ul sînt moleculele ereditare ale organismului. Modificările chimice identificate cu precizie în moleculele acizilor nucleici duc la apariția modificărilor mutaționale. Am arătat mai înainte că la bacterii modificările ereditare dirijate sînt determinate prin transformare și transducție. Dar în aceste cazuri, prin ADN-ul specific se transmiteau anumite proprietăți existente deja în celula-gazdă (în experiență s-a folosit ADN-ul acesteia). Fenomenele de transformare și transducție pot fi comparate cu hibridarea, însă în acest caz avem de-a face cu o hibridare la nivel molecular. În transformare, moleculele de ADN pătrund în celula străină prin difuziune. În cazul transducției, factorul hibridării la nivel molecular este virusul-purtător al unor porțiuni din filamentul cromosomic bacterian. Realizarea hibridării moleculare este legată de procesele biologice de autoreproducere a cromosomilor bacterieni, în timpul căreia materialul molecular ereditar străin, introdus dinafară, se include în filamentul de ADN al celulei. În acest caz, transformarea dirijată a eredității se face pe seama unui material ereditar străin și gata pregătit introdus în celula respectivă.

O situație diferită se observă în cazul mutagenezei chimice dirijate. Aici, sub influența factorilor de mediu (acțiunea acidului azotos, a antimetaboliților etc.), are loc o modificare dirijată a structurii chimice a moleculelor de ADN din interiorul celulei, afectînd o parte sau alta a propriei informații genetice.

În aceste cazuri factorul mutagen chimic intră în reacție directă cu moleculele de ADN și modifică într-o direcție precis orientată structura chimică a moleculelor ereditare. Această modificare depinde de particularitățile biologice ale ADN-ului. Cu ajutorul proceselor de autoreproducere a cromosomilor, mutațiile legate de modificarea bazelor azotate se consolidează sub forma de tulpini mutante stabile, după înlocuirea perechii inițiale cu o nouă pereche de baze azotate. În cazul mutațiilor virusului mozaicului tutunului s-a stabilit că modificarea dirijată a structurii chimice a ADN-ului (înlocuirea bazelor din tripletele codului) duce la o modificare dirijată a sintezei proteinei. Cercetările cu privire la mutageneza chimică la virusul mozaicului tutunului și la bacteriofagi scot la iveală însemnătatea biologică a codului chimic al eredității.

Toate aceste cercetări au creat premise care vor ajuta la rezolvarea problemei dirijării reale a variabilității ereditare la formele organice.

Scanned with OKEN Scanner

Încheiere

Rolul științei și tehnicii în U.R.S.S. după Marea Revoluție Socialistă din Octombrie a fost extrem de mare. În prezent, în fața oamenilor de știință sovietici se ridică noi sarcini. Creșterea forțelor de producție ale țării va avea loc pe baza dezvoltării continue a științei și tehnicii. Crearea în decursul a două decenii a bazei tehnice materiale a comunismului cere dezvoltarea intensă a științei, întărirea legăturilor ei cu viața, cu producția. Știința devine în mare măsură o forță de producție directă.

Dezvoltarea științei este complexă și contradictorie. V.I. Lenin a exprimat în mod genial esența procesului de cunoaștere. El a spus: „De la contemplarea vie la gîndirea abstractă și de la ea la practică — iată calea dialectică a cunoașterii adevărului, a cunoașterii realității obiective". Această formulare arată clar rolul cercetărilor fundamentale menite să lămurească esența principalelor legi ale naturii. Numai prin cercetări fundamentale pe calea elaborării teoriei, care oglindește legile obiective fundamentale ale naturii, știința duce la mari transformări în practică. Aceasta este calea tuturor transformărilor revoluționare pe care știința, dezvoltîndu-se ea însăși pe baza forțelor de producție ale societății, le-a introdus în practica producției. Sub ochii noștri, științele teoretice, experimentale, cărora le-a dat viață dezvoltarea forțelor de producție, parcurgînd etapa contemplării și apoi a gîndirii abstracte, adică a generalizărilor teoretice, pătrund în viață, transformă producția. Teoriile fizicii nucleare și noile metode experimentale au dus la folosirea energiei atomice, dezvoltarea matematicii a dus la apariția ciberneticii — știința sistemelor dirijate, dezvoltarea chimiei științifice a dus la apariția industriei polimerilor sintetici etc. Îmbinarea științelor noi și a tehnicii noi de producție se află la baza creării navelor cosmice. Cu cît este mai importantă problema rezolvată de știință, cu atît este mai mare influența pe care o exercită asupra vieții, asupra producției.

Sîntem pe cale de a dezvălui două mari taine ale naturii, care îl preocupă de mult timp pe om.

Una din ele este taina legilor cosmogonice, a apariției, existenței și dezvoltării Universului. Știința zilelor noastre luptă pentru dezvăluirea enigmelor cosmosului, enigmelor structurii, nucleului atomic și pentru descoperirea esenței materiale a proprietăților Universului, care condiționează dezvoltarea sa ca sistem. Analiza ultimei probe este legată de o profundă incursiune în domeniul cibernetici.

Scanned with OKEN Scanner

Cea de-a doua problemă este enigma vieții. Dezvoltarea științelor contemporane ale naturii a șters granițele între așa-numitele științe exacte — fizica, chimia, matematica, și științele care studiază procesele vieții. Am văzut că tocmai metodele complexe, bazate pe pătrunderea în biologie a metodelor experimentale și a principiilor de gîndire ale științelor exacte, au permis dezvăluirea bazelor fizice și chimice ale eredității.

Dar succesul în însușirea metodelor fundamentale ale dirijării vieții se va obține numai atunci cînd vom dezvălui natura sintezei, adică a interacțiunii speciale a formelor simple, fizice și chimice, de mișcare a materiei, care creează specificul vieții.

În istoria naturii viața a apărut ca un fenomen calitativ nou, datorită faptului că interacțiunea formelor simple de mișcare a asigurat apariția unui mod de existență a proteinelor, legat de continua lor autoreînnoire. Aceasta arată cît de mare este însemnătatea științei, care descoperă natura acestei interacțiuni (adică a științelor biologice care studiază specificul vieții) prin folosirea fizicii, chimiei și matematicii.

În cursul ultimului an și jumătate, principalul eveniment al întregii științe contemporane a fost legat de descifrarea codului genetic. Rezolvarea acestei probleme dezvăluie esența discontinuității chimice a materialului genetic ca bază a înscrierii informației genetice în structurile moleculare ale cromosomilor și prin aceasta dezvăluie cele mai tăinuite laturi ale mecanismului de biosinteză a proteinelor. Revistele științifice și presa de largă circulație cuprind comunicări asupra structurii tripletelor nucleotidice ale codului pentru noi și noi aminoacizi. În prezent dispunem de date cu privire la compoziția chimică a codului pentru toți cei 20 de aminoacizi. Acesta este un mare succes al biochimiei, care folosește pentru asemenea lucrări sisteme de sinteză din elementele celulei vii și polinucleotide sintetice care au înlocuit moleculele de ARN-i natural. Trebuie să știm însă că acesta este un succes al biochimiei noi, genetice, deoarece punerea problemei în ansamblul ei s-a făcut pe baza descoperirilor geneticii generale și moleculare, descoperiri care au arătat că informația genetică este legată de moleculele de ARN și ADN localizate în cromosomii nucleelor celulare. Viitorul acestor minunate descoperiri depinde de elucidarea problemelor genetice, și în primul rînd a problemei genei. Prin importanța sa, descifrarea codului genetic este comparată, pe drept cuvînt, cu evenimentele petrecute în fizica nucleară în 1939, care au marcat descoperirea fisiunii atomilor de uraniu prin bombardarea lor cu neutroni lenți. Astăzi genetica atomică a pătruns în practică.

Prin urmare, ce trebuie să facă biologia pentru ca descifrarea codului genetic să devină un factor puternic de creștere a forțelor de producție și să servească drept bază a dezvoltării unor noi și puternice curente în medicină?

Este clar că folosirea datelor pentru descifrarea codului genetic de dirijare a vieții va căpăta o însemnătate reală numai după ce codul va fi descifrat în structurile ereditare ale organismelor. Se știe că polimerii sintetici artificiali, care au contribuit atît de strălucit la descifrarea codului genetic, nu reprezintă decît o slabă reflectare a organizării moleculare biologice reale a codului genetic în cromosomii organismelor vii. Chiar primele date despre natura codului genetic, rezultate din analiza mutațiilor acridinice ale bacteriofagului T_4 și a mutantelor virusului mozaicului tutunului obținute sub acțiunea acidului azotos, au ridicat problema codului pe o treaptă nouă. Ele au arătat în ce constă specificul codificării în structurile care posedă o organizare biologică reală a înscrierii informației genetice.

Scanned with OKEN Scanner

În experienţele pe bacterii s-a stabilit că pentru sinteza proteinei, paralel cu înscrierea primară a informaţiei genetice în genele structurale din cromosomi, o însemnătate esenţială are a doua treaptă din controlul acestor sinteze, legată de organizarea altor sisteme genetice speciale sub formă de operon.

În genetica moleculară a virusurilor şi bacteriilor sînt posibile descoperiri extrem de importante. Posibilitatea obţinerii de mutaţii *in vitro* în ADN-ul chimic pur, extras din particule ale virusurilor şi din celulele bacteriilor; crearea de hibrizi la nivel molecular din diferite forme pe calea resintezei unor noi molecule de ADN din structuri monocatenare de origine diferită; posibilitatea sintezei moleculelor de ADN şi ARN din precursorii lor pe matriţele unor molecule care servesc ca material pentru asemenea sinteză; elaborarea căilor pentru obţinerea de mutaţii dirijate; descoperirea codului genetic real în moleculele de ADN şi ARN biologic active — toate acestea marchează o nouă etapă în dezvoltarea geneticii moleculare. Ne apropiem de dirijarea eredităţii virusurilor şi bacteriilor, de crearea unor noi forme ale acestor organisme care au o extremă importanţă pentru viaţa omului şi biosferă.

În faţa geneticii moleculare a apărut importanta problemă a descifrării chimice a codului genetic din cromosomii omului, animalelor şi plantelor. După ce, pe baza principiilor geneticii moleculare şi cu ajutorul metodelor biochimiei, chimiei, fizicii şi matematicii, această sarcină va fi fost îndeplinită, importanţa codului cu întregul său specific biologic se va impune în toată amploarea ei. Vom descoperi esenţa programării moleculare în dezvoltarea formaţiunilor organice şi ne vom apropia nemijlocit de rezolvarea problemei dirijării eredităţii organismului.

Dirijarea mutaţiilor va asigura condiţiile în care va putea fi îndrumată variabilitatea ereditară. Procesul mutaţional are un caracter direct în cazul în care urmează a fi modificate alelele normale care asigură o deplină dezvoltare şi o funcţionare normală a individului. În multe cazuri aceste mutaţii vor avea un caracter negativ, producînd anumite tulburări în procesele de dezvoltare. Prevenirea apariţiei acestor mutaţii va duce la profilaxia eredităţii, realizată la nivel molecular.

Fenomenele mutaţiilor inverse constau în transformarea alelelor mutante în alele normale. Stăpînirea procesului de mutaţie inversă va permite aplicarea măsurilor curative în domeniul eredităţii prin dirijarea proceselor moleculare în structurile ereditare.

Am văzut că genetica experimentală a găsit metode de a acţiona asupra numărului de mutaţii şi a spectrului de mutaţii. În această problemă au înregistrat succese deosebite radio- şi chimiogenetica. Folosirea metodelor chimice şi a celor de radiobiologie a permis determinarea activă a unei variabilităţi ereditare la cele mai diferite organisme. Urmînd această cale s-au şi obţinut rezultate de o însemnătate practică primordială. Tocmai prin metodele chimio- şi radiogenetice şi ale selecţiei au fost create noi tulpini de organisme inferioare producătoare de antibiotice. În comparaţie cu speciile existente în natură, aceste noi tulpini produc cantităţi de zeci şi chiar de sute de ori mai mari de antibiotice excelente folosite pentru combaterea a diferite infecţii. Numai după utilizarea în selecţia de producţie a metodelor genetice de acţionare cu radiaţii şi factori mutageni chimici asupra producătorilor de antibiotice s-a obţinut posibilitatea creării marii industrii farmaceutice moderne de antibiotice. În urma cercetărilor de radioselecţie a plantelor cultivate s-au obţinut forme valoroase de grîu imune, cu spice mari şi rezistente, de cartof rezistent la *Phytophthora*, forme arbustiforme de roşii şi alte mutaţii preţioase la numeroase culturi.

Scanned with OKEN Scanner

În experienţele pe bacterii s-a stabilit că pentru sinteza proteinei, paralel cu înscrierea primară a informaţiei genetice în genele structurale din cromosomi, o însemnătate esenţială are a doua treaptă din controlul acestor sinteze, legată de organizarea altor sisteme genetice speciale sub formă de operon.

În genetica moleculară a virusurilor şi bacteriilor sînt posibile descoperiri extrem de importante. Posibilitatea obţinerii de mutaţii *in vitro* în ADN-ul chimic pur, extras din particule ale virusurilor şi din celulele bacteriilor; crearea de hibrizi la nivel molecular din diferite forme pe calea resintezei unor noi molecule de ADN din structuri monocatenare de origine diferită; posibilitatea sintezei moleculelor de ADN şi ARN din precursorii lor pe matriţele unor molecule care servesc ca material pentru asemenea sinteză; elaborarea căilor pentru obţinerea de mutaţii dirijate; descoperirea codului genetic real în moleculele de ADN şi ARN biologic active — toate acestea marchează o nouă etapă în dezvoltarea geneticii moleculare. Ne apropiem de dirijarea eredităţii virusurilor şi bacteriilor, de crearea unor noi forme ale acestor organisme care au o extremă importanţă pentru viaţa omului şi biosferă.

În faţa geneticii moleculare a apărut importanta problemă a descifrării chimice a codului genetic din cromosomii omului, animalelor şi plantelor. După ce, pe baza principiilor geneticii moleculare şi cu ajutorul metodelor biochimiei, chimiei, fizicii şi matematicii, această sarcină va fi fost îndeplinită, importanţa codului cu întregul său specific biologic se va impune în toată amploarea ei. Vom descoperi esenţa programării moleculare în dezvoltarea formaţiunilor organice şi ne vom apropia nemijlocit de rezolvarea problemei dirijării eredităţii organismului.

Dirijarea mutaţiilor va asigura condiţiile în care va putea fi îndrumată variabilitatea ereditară. Procesul mutaţional are un caracter direct în cazul în care urmează a fi modificate alelele normale care asigură o deplină dezvoltare şi o funcţionare normală a individului. În multe cazuri aceste mutaţii vor avea un caracter negativ, producînd anumite tulburări în procesele de dezvoltare. Prevenirea apariţiei acestor mutaţii va duce la profilaxia eredităţii, realizată la nivel molecular.

Fenomenele mutaţiilor inverse constau în transformarea alelelor mutante în alele normale. Stăpînirea procesului de mutaţie inversă va permite aplicarea măsurilor curative în domeniul eredităţii prin dirijarea proceselor moleculare în structurile ereditare.

Am văzut că genetica experimentală a găsit metode de a acţiona asupra numărului de mutaţii şi a spectrului de mutaţii. În această problemă au înregistrat succese deosebite radio- şi chimiogenetica. Folosirea metodelor chimice şi a celor de radiobiologie a permis determinarea activă a unei variabilităţi ereditare la cele mai diferite organisme. Urmînd această cale s-au şi obţinut rezultate de o însemnătate practică primordială. Tocmai prin metodele chimio- şi radiogenetice şi ale selecţiei au fost create noi tulpini de organisme inferioare producătoare de antibiotice. În comparaţie cu speciile existente în natură, aceste noi tulpini produc cantităţi de zeci şi chiar de sute de ori mai mari de antibiotice excelente folosite pentru combaterea a diferite infecţii. Numai după utilizarea în selecţia de producţie a metodelor genetice de acţionare cu radiaţii şi factori mutageni chimici asupra producătorilor de antibiotice s-a obţinut posibilitatea creării marii industrii farmaceutice moderne de antibiotice. În urma cercetărilor de radioselecţie a plantelor cultivate s-au obţinut forme valoroase de grîu imune, cu spice mari şi rezistente, de cartof rezistent la *Phytophthora*, forme arbustiforme de roşii şi alte mutaţii preţioase la numeroase culturi.

Scanned with OKEN Scanner

Sarcini mari se pun astăzi în fața geneticii chimice și a radiogeneticii. Oamenii de știință care lucrează în acest domeniu vor face cercetări importante pentru a crea noi forme de alge fotosintetizante unicelulare de culoare verde și verde-deschis, de bacterii și de alte organisme care să poată lua parte la zborurile cosmice ale omului, pentru a-i asigura o cantitate suficientă de oxigen, hrană și condițiile necesare pentru un zbor fără primejdii.

Cu toate că, după cum am arătat mai sus, diferiți factori chimici și radianți posedă într-o anumită măsură o specificitate sau alta, aceste metode sînt totuși încă departe de a da posibilitatea unei dirijări totale a laturii calitative a mutațiilor. Sub acțiunea lor apar în număr mare cele mai felurite mutații, atît pozitive, cît și negative. În obținerea formelor necesare, reușita este legată de selecția celor mai valoroase modificări și eliminarea formelor nedorite. Trebuie avut în vedere că amploarea și profunzimea modificărilor în ereditatea organismului sînt relativ mici. Totodată, nu trebuie să uităm că elementele specifice în acțiunea diferiților factori mutageni, adică acțiunea asupra laturii calitative a procesului mutațional, elemente pe care le-am descris mai sus, au foarte mare însemnătate. Ele arată că s-a obținut un anumit specific în modificările structurii chimice a ADN-ului în funcție de factorii folosiți. Sarcina constă tocmai în a dirija latura calitativă a mutațiilor, ceea ce înseamnă că prin folosirea unor acțiuni calitativ determinate să producem modificări ereditare dirijate pe calea formării unor anumite structuri moleculare în cromosomi.

Știința din epoca noastră este chemată să rezolve patru mari probleme. Cea dintîi este problema cuceririi Cosmosului, a doua — realizarea reacției termonucleare dirijate, a treia — cibernetica, a patra sarcină importantă care stă în fața științelor naturii este elaborarea metodelor de obținere a mutațiilor dirijate. În cele arătate pînă acum am văzut că au și fost deschise căile spre rezolvarea acestei probleme importante. Descifrarea codului genetic și obținerea unor modificări în structura chimică a ADN-ului și ARN-ului la bacterii și virusuri prin acțiunea acidului azotos și a antimetaboliților (analogii bazelor) sînt primii pași pe drumul rezolvării problemei obținerii de mutații dirijate.

Știința va continua și pe viitor să se dezvolte într-un ritm nemaivăzut. Navele cosmice vor pătrunde departe în spațiile universului. Fizicienii vor rezolva problema reacției termonucleare dirijate. Dezvoltarea ciberneticii va asigura automatizarea producției și reconstruirea bazei tehnice pentru dezvoltarea științelor experimentale, aducînd noi principii în biologie și cosmologie. Dezvoltarea geneticii moleculare și a radiogeneticii va asigura elaborarea măsurilor pentru securitatea cosmonauților în timpul zborurilor lungi în profunzimile universului, a măsurilor pentru apărarea eredității omului și a altor organisme față de efectele radiațiilor în cosmos și pe pămînt, prin folosirea pe scară largă a energiei atomice în știință și tehnică, va fixa principiile descifrării codului genetic în cromosomii omului și prin aceasta va deschide drumul spre rezolvarea problemei cancerului, drumul luptei pentru longevitate, precum și pentru profilaxia moleculară îndreptată spre prevenirea apariției maladiilor ereditare la om, pentru vindecarea maladiilor moleculare, cromosomice și a multor altor boli. Descifrarea esenței chimice a informației genetice din cromosomii animalelor, plantelor, microorganismelor și virusurilor va deschide calea pentru rezolvarea marii probleme a transformării dirijate a eredității organismelor. Îmbinarea acestor principii cu analiza formelor de viață rămase deocamdată necunoscute nouă și care vor fi descoperite în viitor, va permite să se rezolve problema bazei vieții în Univers. Va veni timpul cînd misterul esenței vieții va fi dezvăluit.

Scanned with OKEN Scanner

Cuprins

Prefață 5

Introducere 9

CAPITOLUL I

Bazele moleculare ale eredității 19

1. Celula ca bază a vieții 19
2. Acizii nucleici și proteinele în structurile ereditare 32
3. Organizarea moleculară a eredității la bacterii și virusuri 40
4. Particularitățile genetice ale bacteriilor și virusurilor în procesele de transformare, transducție și conjugare 59
5. Structura chimică a moleculelor de ADN. Autoreproducerea lor și principiile de înregistrare a informației genetice 69
6. Reproducerea și transmiterea informației genetice în celula vie (bazele moleculare ale sintezei proteinelor) 87
7. Controlul genetic al moleculelor de aminoacizi, enzime, antigeni și hormoni în dezvoltarea ontogenetică și filogenetică a organismelor 108
8. Bazele chimice ale discontinuității în fenomenele eredității (problema genei) și succesele obținute în descifrarea chimică a codului informației genetice 124
9. Legile transmiterii proprietăților ereditare de-a lungul generațiilor de organisme diploide 157
10. Ereditatea la om 179

CAPITOLUL II

Influența radiațiilor asupra structurilor moleculare ereditare 206

1. Schema generală a interacțiunii dintre structurile moleculare ereditare și energia radiațiilor 206
2. Diferite radiații ionizante și efectul lor biologic 213
3. Principalele categorii de efecte genetice ale radiațiilor ionizante 220
4. Principalele relații cantitative care determină apariția radiomutațiilor în funcție de doza, felul și intensitatea radiațiilor 223
5. Influența factorilor mediului asupra efectelor genetice ale radiațiilor și problemele de protecție a eredității 228
6. Acțiunea radiațiilor asupra eredității omului 232

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL III

Dirijarea variabilității ereditare a organismelor 236

1. Mutațiile și integritatea sistemului ereditar al organismelor 236
2. Factorii fizici și chimici care determină apariția mutațiilor 245
3. Specificitatea acțiunii exercitate asupra eredității de către diferiți factori mutageni chimici și fizici 250
4. Modificarea dirijată a structurii chimice a moleculelor ereditare 261

Încheiere 281

Scanned with OKEN Scanner

STRUCTURII ŞI COMPOZIŢIEI CELULARE ŞI ÎN CELE PRIVIND ROLUL ACIZILOR NUCLEICI ŞI AL PROTEINELOR ÎN STRUCTURILE EREDITARE.

CONSIDERÎND CĂ ORGANIZAREA GENICĂ A EREDITĂŢII CONSTITUIE PROBLEMA CENTRALĂ A GENETICII, AUTORUL FACE TOTODATĂ ŞI ISTORICUL CERCETĂRILOR EFECTUATE PÎNĂ ÎN PREZENT ASUPRA STRUCTURII, COMPOZIŢIEI ŞI ROLULUI GENEI.

EREDITATEA LA OM ESTE TRATATĂ ÎN MOD SEPARAT ŞI CUPRINDE REZULTATELE STUDIERII UNOR BOLI CA EPILEPSIA, HEMOFILIA, BOALA HIPERTONICĂ ETC.

ÎN CELE MAI MULTE PROBLEME AUTORUL ÎŞI EXPUNE PUNCTELE DE VEDERE PERSONALE, ELE CONSTITUIND O CONTRIBUŢIE INDISCUTABILĂ LA PROGRESUL GENETICII.

Scanned with OKEN Scanner